



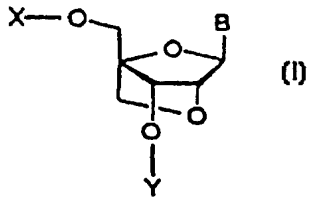
<b>(51) 国際特許分類6</b> <b>C07H 19/06, 19/16, 21/00 // C12N 15/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO98/39352</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 1998年9月11日(11.09.98)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP98/00945 <b>(22) 国際出願日</b> 1998年3月9日(09.03.98) <b>(30) 優先権データ</b> 特願平9/53409 1997年3月7日(07.03.97) JP <b>(71) 出願人 ; および</b> <b>(72) 発明者</b> 今西 武(IMANISHI, Takeshi)[JP/JP] 〒631-0045 奈良県奈良市千代ヶ丘2丁目2-18 Nara, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 小比賀聡(OBIKA, Satoshi)[JP/JP] 〒569-1022 大阪府高槻市日吉台四番町2034 Osaka, (JP) <b>(74) 代理人</b> 弁理士 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.) 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 湯浅法律特許事務所 Tokyo, (JP)		<b>(81) 指定国</b> AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  添付公開書類 国際調査報告書
<b>(54) Title: <u>NOVEL BICYCLONUCLEOSIDE AND OLIGONUCLEOTIDE ANALOGUES</u></b> <b>(54) 発明の名称</b> 新規ビスクロヌクレオシド及びオリゴヌクレオチド類縁体  <b>(57) Abstract</b> Oligo- or polynucleotide analogues each having one or two structures represented by general formula (I) wherein B represents pyrimidine or purine nucleic acid base or analogue thereof. They can provide antisense molecules of oligonucleotide analogues that are less likely to undergo enzymatic hydrolysis <i>in vivo</i> , have a high capability of binding to sense chains, and can be easily synthesized. <div data-bbox="852 1302 1161 1501"><p>(I)</p></div>		

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

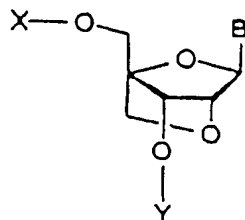
International application No.  
PCT/JP98/00945

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>6</sup> C07H19/06, C07H19/16, C07H21/00 // C12N15/00				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>6</sup> C07H19/06, C07H19/16, C07H21/00, C12N15/00				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), CA (STN), REGISTRY (STN)				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
P, X	OBIKA S. et al., "Synthesis of 2'-O,4'-C-Methyleneuridine an d-cytidine. Novel Bicyclic Nucleosides Having a Fixed C <sub>3</sub> , -endo Sugar Puckering", Tetrahedron Letters, Vol. 38, No. 50 (15 December 1997) p.8735-8738	1-5		
A	ALTMANN K. H. et al., "6'-Carbon-Substituted Carbocyclic Analogs of 2'-Deoxyribonucleosides Synthesis and Effect on DNA/RNA Duplex Stability" Tetrahedron, Vol. 52, No. 39 (1996) p.12699-12722	1-5		
A	OBIKA S. et al., "Properties of Novel Oligonucleotide Analogues Containing an Acyclic Nucleoside and a Carbamate Linkage" Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 6, No. 12, (1996) p.1357-1360	1-5		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;">           * Special categories of cited documents:            "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance            "E" earlier document but published on or after the international filing date            "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)            "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means            "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed         </td> <td style="vertical-align: top;">           "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention            "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone            "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art            "&amp;" document member of the same patent family         </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search May 25, 1998 (25. 05. 98)		Date of mailing of the international search report June 2, 1998 (02. 06. 98)		
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer		
Facsimile No.		Telephone No.		



<b>(51) 国際特許分類6</b> <b>C07H 19/06, 19/16, 21/00 // C12N 15/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO98/39352</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 1998年9月11日(11.09.98)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP98/00945  <b>(22) 国際出願日</b> 1998年3月9日(09.03.98)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平9/53409                      1997年3月7日(07.03.97)                      JP  <b>(71) 出願人 ; および</b> <b>(72) 発明者</b> 今西 武(IMANISHI, Takeshi)[JP/JP] 〒631-0045 奈良県奈良市千代ヶ丘2丁目2-18 Nara, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 小比賀聡(OBIKA, Satoshi)[JP/JP] 〒569-1022 大阪府高槻市日吉台四番町2034 Osaka, (JP)  <b>(74) 代理人</b> 弁理士 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.) 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 湯浅法律特許事務所 Tokyo, (JP)		<b>(81) 指定国</b> AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  添付公開書類 国際調査報告書
<b>(54) Title:    NOVEL BICYCLONUCLEOSIDE AND OLIGONUCLEOTIDE ANALOGUES</b>  <b>(54) 発明の名称</b> 新規ビスクロヌクレオシド及びオリゴヌクレオチド類縁体  <b>(57) Abstract</b> Oligo- or polynucleotide analogues each having one or two structures represented by general formula (I) wherein B represents pyrimidine or purine nucleic acid base or analogue thereof. They can provide antisense molecules of oligonucleotide analogues that are less likely to undergo enzymatic hydrolysis <i>in vivo</i> , have a high capability of binding to sense chains, and can be easily synthesized. <div data-bbox="852 1291 1161 1491"></div>		

一般式：



(1)

[式中、Bはピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体である]  
 で表される構造を1または2以上有するオリゴまたはポリヌクレオチド類縁体が  
 開示されている。この類縁体の使用により、生体内で酵素の加水分解を受けにく  
 く、センス鎖との結合能が高く、しかも合成が容易であるオリゴヌクレオチド類  
 縁体アンチセンス分子が提供される。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FR	フランス	LT	リトアニア	NZ	ニュージーランド
AM	アルメニア	GB	イギリス	LV	ラトヴィア	SD	スーダン
AT	オーストリア	GE	ジョージア	MC	モナコ	DG	デンマーク
AZ	アゼルバイジャン	GM	ギニア	MD	モルドバ	TJ	タジキスタン
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BB	バハマ	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア共和国	TR	トルコ
BE	ベルギー	RU	ロシア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BG	ブルガリア	DE	ドイツ	MN	モンゴル	AG	アンティグア
BR	ブラジル	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	SS	スーダン
BY	ベラルーシ	IL	イスラエル	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CA	カナダ	IT	イタリア	MX	メキシコ	VC	セントビンセント
CC	中央アフリカ共和国	JP	日本	NE	ニジェール	VG	ヴァージン諸島
CH	スイス	KE	ケニア	NN	ノルウェー	VI	ヴァージン諸島
CL	チリ	KG	キルギス	NO	ノルウェー	WU	ウーロン
CM	カメルーン	KZ	カザフスタン	NZ	ニュージーランド	YU	ユーゴスラビア
CN	中国	LA	ラオス	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CO	コロンビア	LC	セントルシア	PT	ポルトガル		
CU	キューバ	LI	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア		
CZ	チェコ	LR	リベリア	RS	セルビア		
DE	ドイツ	LS	レソト	SE	スウェーデン		
DK	デンマーク			SI	スロベニア		
EE	エストニア			SK	スロバキア		

## 明 細 書

## 新規ビスクロヌクレオシド及びオリゴヌクレオチド類縁体

## 〔技術分野〕

本発明は新規なヌクレオシド類縁体とヌクレオチド類縁体に関し、更に詳細に  
5 はアンチセンス分子に適したヌクレオチド類縁体に関するものである。

## 〔背景技術〕

1978年にアンチセンス分子がインフルエンザウィルスの感染を阻害したとの報告が初めて成された。以後、ガン遺伝子発現やAIDS感染を阻害したとの報告もなされている。アンチセンスオリゴヌクレオチドが望ましくない遺伝子の  
10 発現を特異的に制御することから、医薬品として近年、最も期待されている分野の一つである。

アンチセンス法とは、DNA→RNA→タンパク質という、いわゆるセントラルドグマの一連の流れをアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて制御しようという概念に基づいている。

15 しかしながら、天然型オリゴヌクレオチドをアンチセンス分子としてこの方法に適用した場合、生体内の各種ヌクレアーゼにより分解を受けたり、細胞膜透過性が高くないなどの問題が生じた。そのため、様々な核酸誘導體や類縁体が数多く合成され、研究が重ねられてきた。例えば、リン原子上の酸素原子をイオウ原子に置換したホスホロチオエート、メチル基に置換したメチルホスホネート、また  
20 最近になっては、リン原子も炭素原子で置換したもの、さらには糖部の構造を変換したもの、核酸塩基を修飾したものなども合成されている。しかし、いずれの場合も、生体内での安定性、合成の容易さ、配列特異性（特定の遺伝子発現のみを選択的に制御する）などの点で十分に満足 of いく誘導體や類縁体が得られていないのが現状である。

25 生体内でヌクレアーゼによる分解を受けにくく、高い親和力で標的のメッセンジャーRNAに結合し、その特異性に優れ、よって特定の遺伝子の発現を効率よく制御することのできるアンチセンス用の分子の創製が望まれている。

## 〔発明の開示〕

本発明の発明者らは、アンチセンス法において有用と考えられる、核酸における糖部のコンホメーションの固定化を施した核酸類縁体を設計し、その単位構造となるヌクレオシド類縁体の合成を行い、これを用いて調製したオリゴヌクレオチド類縁体にアンチセンス分子として極めて有用であることを確認した。

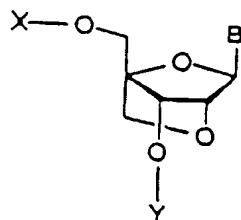
5      [図面の簡単な説明]

第1図は、天然型のオリゴヌクレオチドをエキソヌクレアーゼで分解した時の紫外吸収（260 nm）の経時変化を示すチャートである。

第2図は、本発明のオリゴヌクレオチド（X2）をエキソヌクレアーゼで分解した時の紫外吸収（260 nm）の経時的変化を示すチャートである。

10      以下に本発明の詳細を説明する。

本発明のヌクレオシド類縁体の構造は下記の一般式（I）で表すことができる。



(I)

15      [式中、Bはピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体であり、X及びYは同一もしくは異なり、水素、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基、又はシリル基である] で表わされるヌクレオシド類縁体もしくはそれらのアミダイト誘導体である。

20      アルキル基とは炭素数1-20の直鎖または分枝鎖状のアルキル基を示し、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、ノニル基、デシル基等があげられる。

アルケニル基とは、炭素数2-20の直鎖または分枝鎖状のアルケニル基を示し、例えば、ビニル基、アリル基、ブテニル基、ペンテニル基、ゲラニル基、フェルネシル基等があげられる。

5 アルキニル基とは、炭素数2-20の直鎖または分枝鎖状のアルキニル基を示し、例えば、エチニル基、プロピニル基、ブチニル基等があげられる。

シクロアルキル基とは、炭素数3-8のシクロアルキル基を示し、例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロオクチル基等があげられる。シクロアルキル基の環上の1つ以上の任意のメチレンが酸素原子や硫黄原子あるいはアルキル基で置換された窒素原子に置換された複素環基も含まれ、例えばテトラヒドロピラニル基などがあげられる。

アリール基とは、芳香族複素環基又は芳香族炭化水素基、から水素原子1個を除いた1価の置換基を意味し、好ましくは、芳香族炭化水素基から水素原子1個を除いた1価の置換基を意味し、例えば、フェニル基、トリル基、キシリル基、15 ビフェニル基、ナフチル基、アントリル基、フェナントリル基等である。また、アリール基の環上の炭素原子はハロゲン原子、低級アルキル基、水酸基、アルコキシ基、アミノ基、ニトロ基、トリフルオロメチル基等の1種以上の基によって置換されていてもよい。置換基としてはハロゲン原子、水酸基、アミノ基、アルコキシ基、アリールオキシ基等があげられる。

20 アラルキル基とは、アリール基にアルキル基が結合した基で、アラルキル基は置換されていてもよい。置換されていてもよいアラルキル基とはアリール基にアルキル基が結合した基で、アリール基及びアルキル基の任意の1つ以上の水素原子が以下の置換基で置換されていてもよい基を意味する。ここで置換基としては、アシル基、アミノ基、アリール基、アルキル基、シクロアルキル基、アルコキシ基、水酸基、ニトロ基、ハロゲン原子等がある。

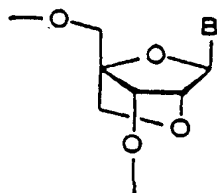
25 アミノ基は置換されていてもいなくてもよいが、置換されているアミノ基の例としてはアルキルアミノ基、アリールアミノ基、アシルアミノ基等がある。アルコキシ基の例としては、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、i-プロ

ポキシ基、n-ブトキシ基、i-ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基、フェノキシ基等がある。ハロゲン原子としてはフッ素、塩素、臭素、ヨウ素がある。

5 アラルキル基の好ましい例としては、例えばトリチル基、ベンジル基、フェネチル基、トリチルメチル基、ジフェニルメチル基、ナフチルメチル基、4,4'-ジメトキシトリチル (DMTr) 基等があるが、特に好ましいのはDMTr基である。

10 アシル基としては、アセチル基、ホルミル基、プロピオニル基、ベンゾイル基、ベンジルオキシカルボニル基等があげられる。シリル基の例としては、トリアルキルシリル基があげられるが、好ましくは、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、トリイソプロピルシリル基、t-ブチルジメチルシリル基、t-ブチルジフェニルシリル基等があげられ、更に好ましくはトリメチルシリル基である。

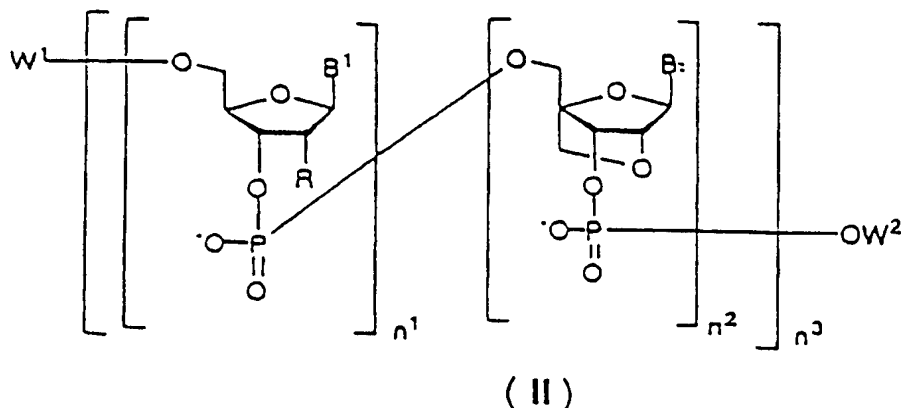
また、本発明のヌクレオチド類縁体は、一般式 (Ia)



(Ia)

15 [式中、Bはピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体である] で表される構造を1または2以上有するオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド類縁体、または、一般式 (II)



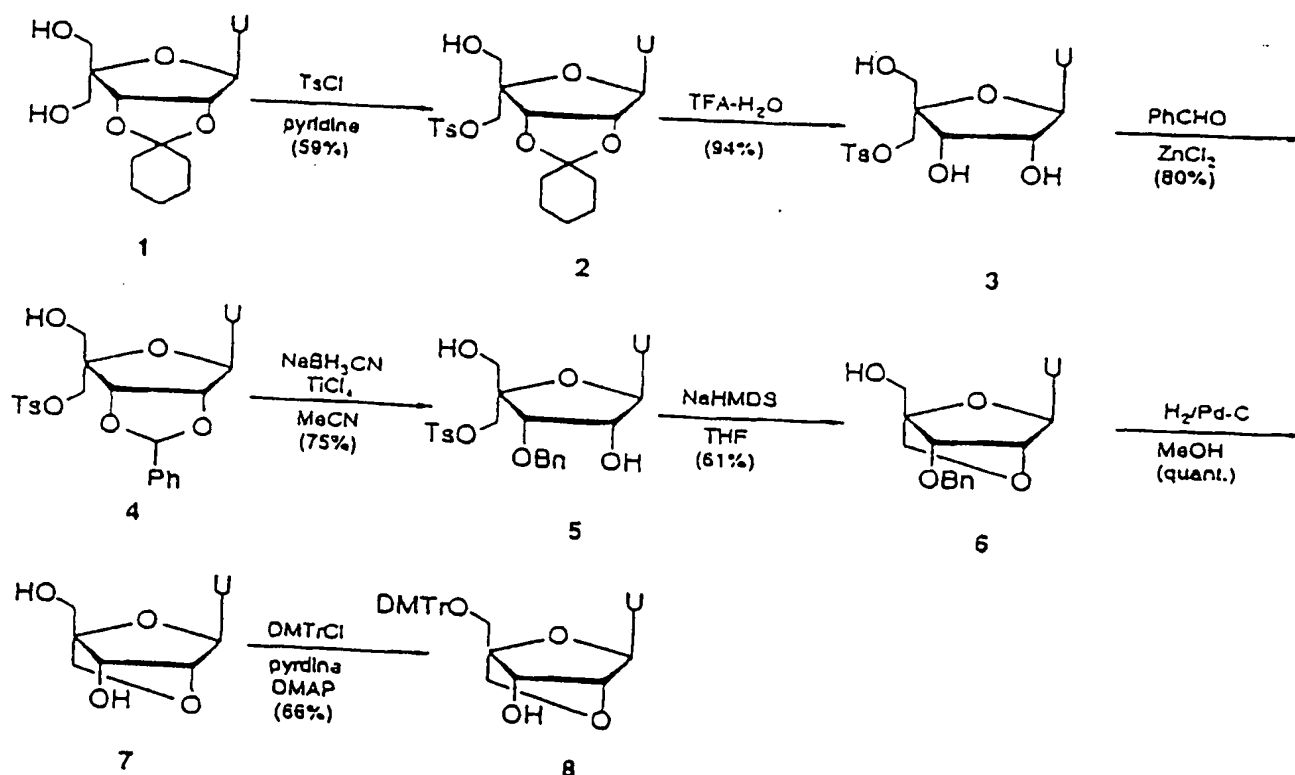


〔式中、 $B^1$ 、 $B$ は同一または異なり、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体であり、 $R$ は水素、水酸基、ハロゲン、またはアルコキシ基であり、 $W^1$ 、 $W^2$ は同一または異なり、水素、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基、シリル基またはリン酸残基もしくはリン酸ジエステル結合を介した天然型ヌクレオシド、合成ヌクレオシドまたはこれらヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドであり、 $n^1$ または $n^2$ は同一または異なり、0～50の整数である（ただし、 $n^1$ または $n^2$ が同時にゼロになることはない。また、 $n^2$ の全てが同時にゼロになることはない。）、 $n^3$ は1～50の整数である、ただし、 $n^1$ および／または $n^2$ が2以上の場合には $B^1$ と $B$ は同一でなくてもよく、 $R$ も同一でなくてもよい〕で表されるオリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド類縁体である。

本発明における、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基とは、チミン、ウラシル、シトシン、アデニン、グアニン及びそれらの誘導体である。

本発明のヌクレオシド類縁体及びヌクレオチド類縁体は次のように合成できる。

#### (1) ヌクレオシド類縁体の合成

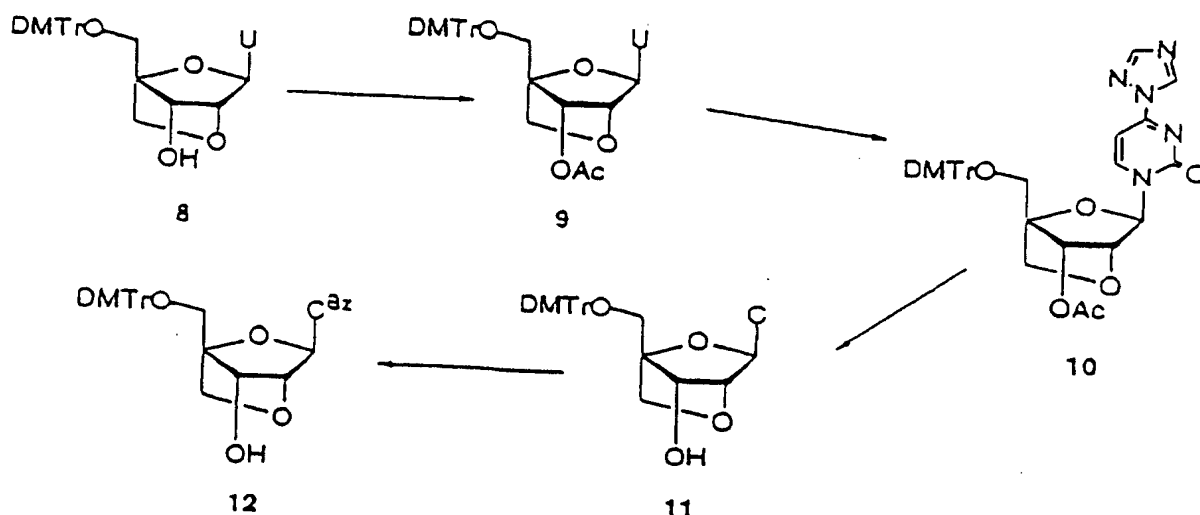


- ウリジンから文献 [1) J. A. Secrist et al., J. Am. Chem. Soc., 101, 1554 (1979); 2) G. H. Jones et al., J. Org. Chem., 44, 1309 (1979)] に従い合成した化合物 1 をトシルクロリド ( $\text{TsCl}$ ) で 2 個ある第一級アルコールの一方のみをトシル化して化合物 2 に導き、酸加水分解してトリオール体 3 とした。
- 5 化合物 3 はベンズアルデヒドと酸触媒下で縮合反応を行いベンジリデン化合物 4 として、このものを四塩化チタン ( $\text{TiCl}_4$ ) 存在下にナトリウムシアノボロヒドリド ( $\text{NaBH}_3\text{CN}$ ) で還元すると化合物 5 が得られた。本化合物をテトラヒドロフラン ( $\text{THF}$ ) 中でナトリウムヘキサメチルジシラジド ( $\text{NaHMD}$

S) と反応させたところ、ビスクロ化合物 6 (化合物 I : B=ウラシル (U), X=H, Y=ベンジル) が得られた。化合物 6 をパラジウム炭素触媒下で接触還元すると、ジオール化合物 7 (化合物 (I) ; B=U, X=Y=H) が得られ、更に、4、4'-ジメトキシトリチルクロリド (DMTrCl) 処理するとトリチル体 8 (化合物 I ; B=U, X=DMTr, Y=H) が得られた。化合物 6、7 及び 8 は様々な化合物 I の原料として利用することができる。

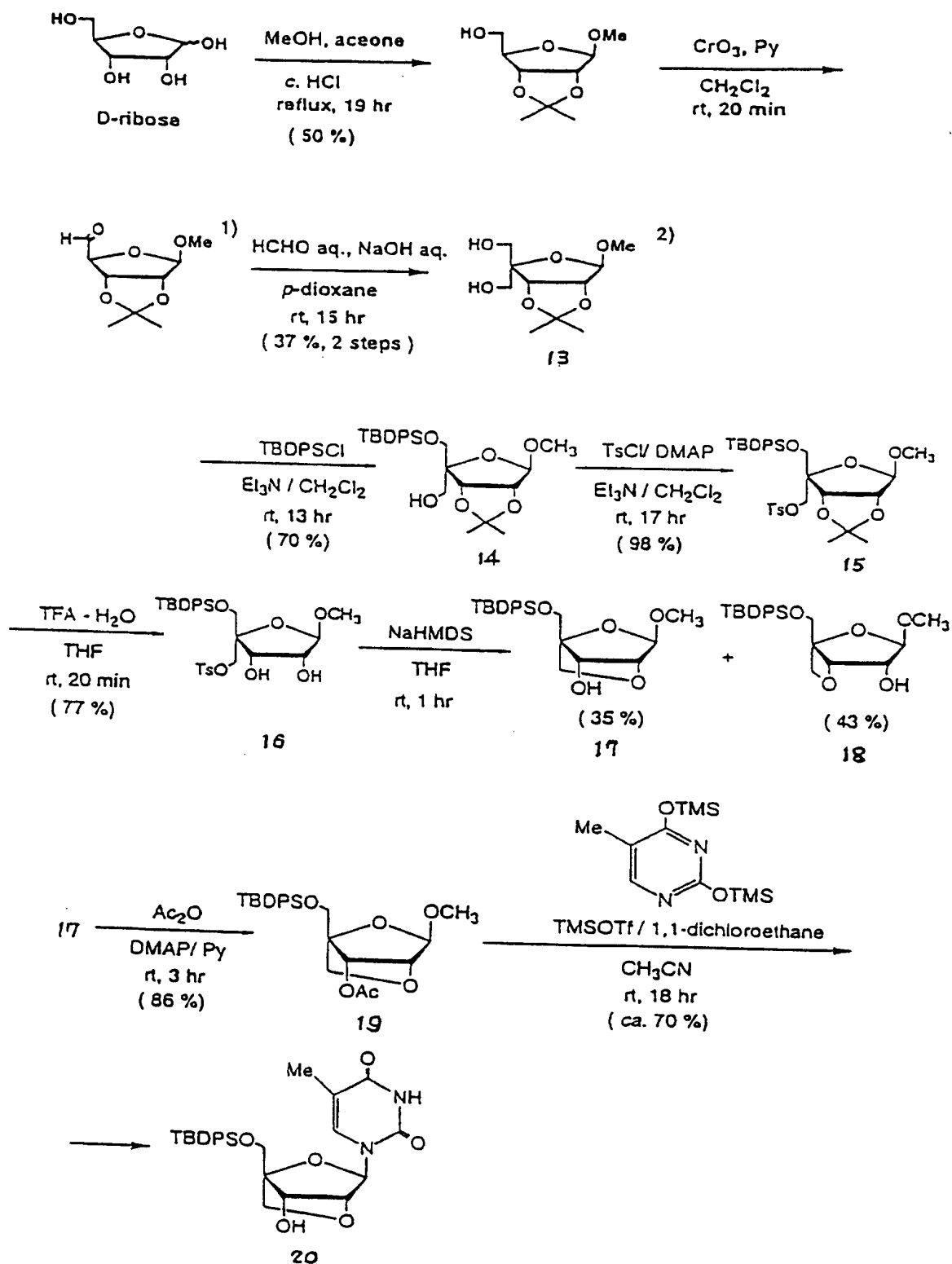
ウリジン以外の天然・非天然を問わず様々な核酸塩基を有する化合物 (I) は 3 通りの方法で合成することができる。

その一つは、化合物 8 からの変換である。すなわち、化合物 8 をアセチル化して化合物 9 とした後、1、2、4-トリアゾールと反応して化合物 10 に導き、加水分解すると化合物 11 (化合物 (I) ; B=シトシン (C), X=DMTr, Y=H) が得られた。オリゴヌクレオチド合成の原料となる化合物 12 (化合物 (I) ; B=ベンゾイルシトシン (C<sup>Bz</sup>), X=DMTr, Y=H) は化合物 11 のベンゾイル化で容易に得られる。

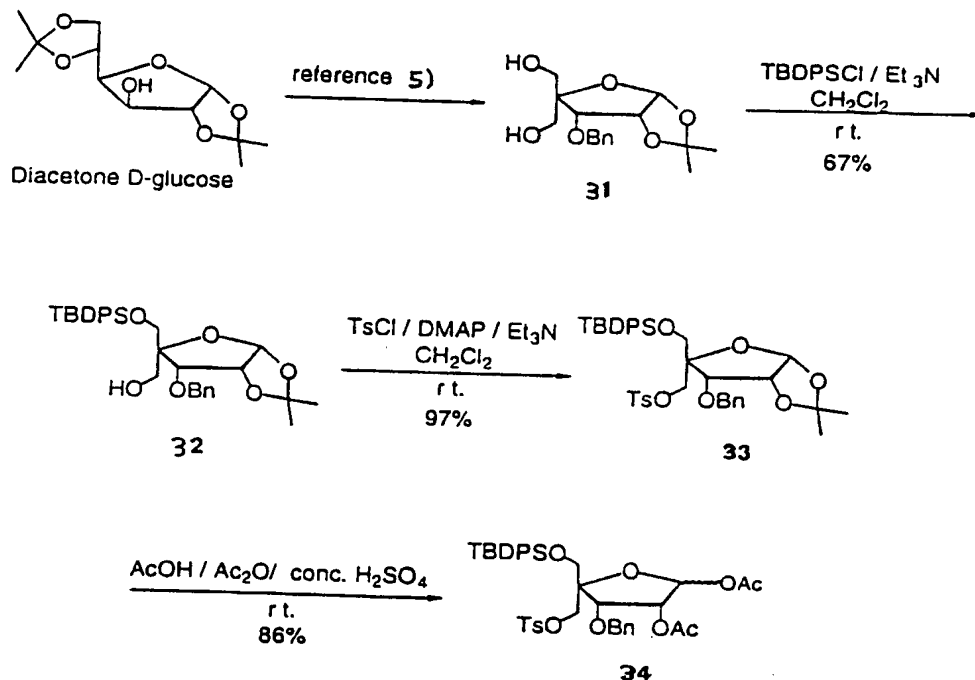


第二の方法はD-リボースから文献 [3) A.G.M. Barrett et al., J. Org. Chem., 55, 3853(1990); 4) G.H. Jones et al., ibid., 44, 1309 (1979)] に従って容易に得られる化合物 13 を経由する方法である。すなわち、化合物 13 を 3 工程で化合物 16 に導き、塩基性条件下に閉環反応すると、目的のメチルグリコ

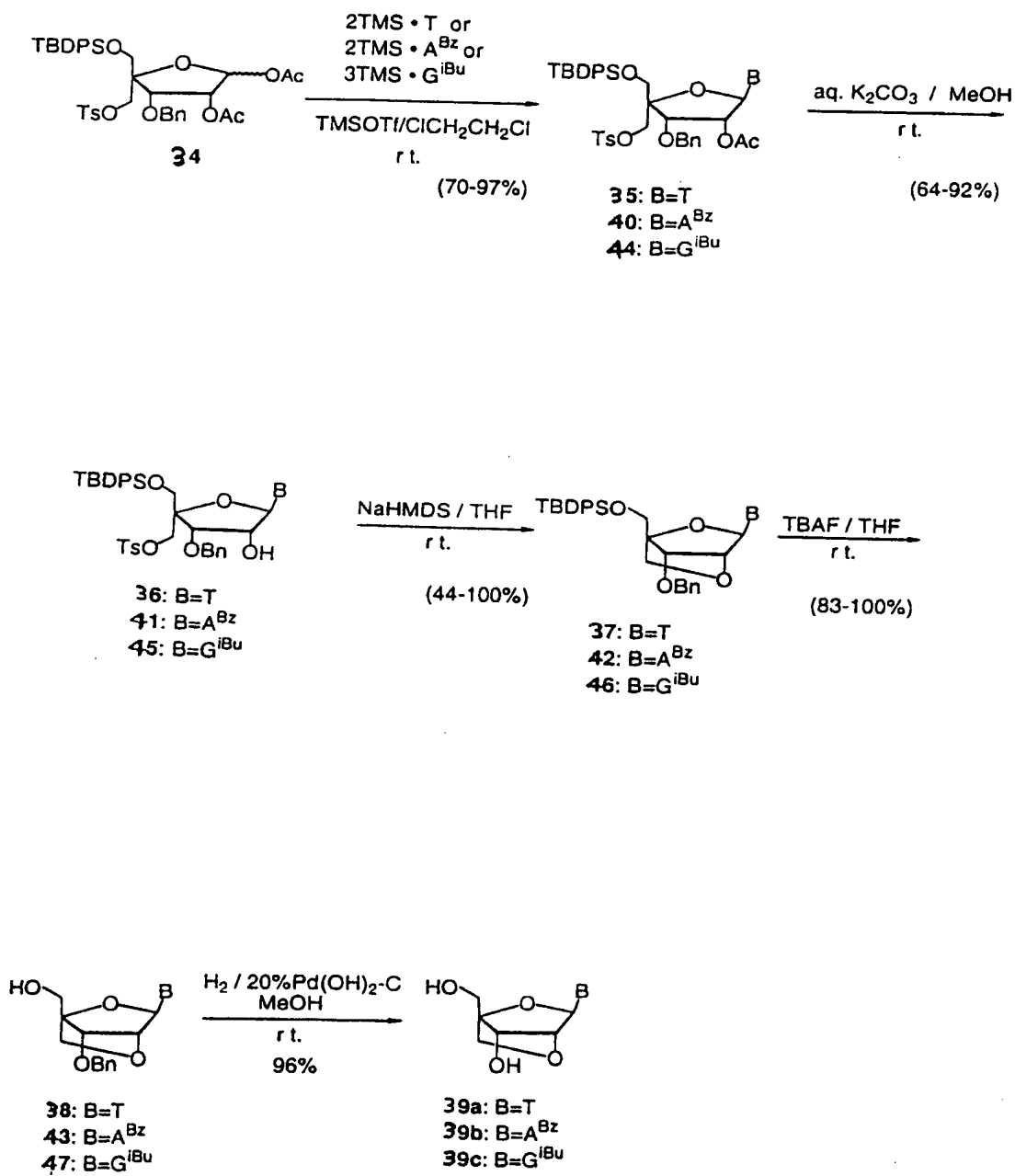
シル化合物 17 が得られた。本化合物の 1 位 OMe 基を天然の様々な核酸塩基や非天然の核酸塩基類縁体に置換するには、既に開発された種々の方法により可能である。例えば、下式化合物 17 から化合物 20 のような方法が使用できる。



さらに、第三の方法としては、D-グルコースから1工程で得られ、しかも市販品であるジアセトン D-グルコースを出発原料とする方法である。文献 5) R. D. Youssefyeh, J. P. H. Verheyden and J. G. Moffatt., J. Org. Chem., 44, 1301-1309 (1979) に従って化合物 31 を調製する。次いで、化合物 31 を下記  
5 の式に示した通り、2種の1級水酸基を t-ブチルジフェニルシリル基、p-トルエンスルホニル基で段階的に保護し、アセチル化処理して化合物 34 に導いた。

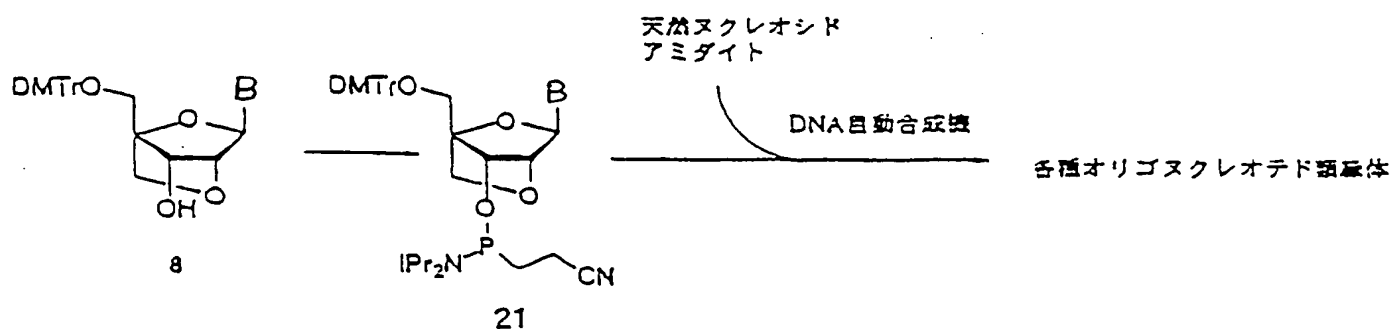


化合物 34 にトリメチルシリル化して活性化したチミン (2TMS · T)、ベンゾイルアデニン (2TMS · A<sup>Bz</sup>)、イソブチリルグアニン (3TMS · G<sup>iBu</sup>) を別々に縮合させ、下記の式に示すように、化合物 5、10、14 をそれぞれ高  
10 収率で得た。ついで、これら縮合体は脱アセチル化 (化合物 36、41、45)、5員環形成 (化合物 37、42、46)、脱シリル化 (化合物 38、43、47)、更に脱ベンジル化して目的の化合物 39 へと誘導した。



## (2) オリゴヌクレオチド類縁体の合成

化合物 8 に 2-シアノエチル-N, N, N', N'-テトライソプロピルホスホロアミダイトを作用させ、アミダイト体 21 を得、このものと天然ヌクレオシドアミダイト体とを組み合わせ、DNA 自動合成機を用いて種々のオリゴヌクレオチド類縁体を合成する。合成した粗生成物はオリゴパック、逆相クロマトカラムを用いて精製し、精製物の純度を HPLC で分析することにより確認する。



化合物 8 のモノマーユニットは、オリゴヌクレオチド類縁体の中に 1 つ以上存在させることができる。また、オリゴヌクレオチド類縁体の中の 2 ヶ所以上の位置に、1 または 2 以上の天然ヌクレオチドを介して隔離された状態で存在させても良い。本発明に依れば、本発明のヌクレオチド類縁体（ヌクレオシド類縁体）を必要な位置に必要な数（長さ）で導入したアンチセンス分子を合成することができる。オリゴヌクレオチド類縁体全体の長さとしてヌクレオシド単位が 2 ～ 50、好ましくは 10 ～ 30 個である。

このようなオリゴヌクレオチド類縁体（アンチセンス分子）は、各種ヌクレアーゼに対して分解されにくく、生体への投与後、長時間生体内に存在することができる。そして、例えば、メッセンジャー RNA と安定な二重鎖を形成して病因となるタンパク質の生合成を阻害したり、ゲノム中の二重鎖 DNA との間で三重鎖を形成して、メッセンジャー RNA への転写を阻害する。また、感染したウイルスの増殖を抑えることも可能となる。



これらのことから、本発明のヌクレオシド類縁体を用いたオリゴヌクレオチド類縁体（アンチセンス分子）は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤をはじめとした、特定遺伝子の働きを阻害して疾病を治療する医薬品としての有用性が期待される。

本発明のヌクレオチド（ヌクレオチド）類縁体を用いたアンチセンス分子は、例えば、緩衝剤および／または安定剤等の慣用の助剤を配合して非経口投与製剤としたり、リポソーム製剤とすることができる。また、局所用の製剤としては、慣用の医薬用担体を配合して軟膏、クリーム、液剤、または膏薬等に調剤できる。

本発明のヌクレオシド類縁体ならびにヌクレオチド類縁体の合成を実施例および製造例により、さらに詳しく説明する。実施例では、塩基としてウラシルを主として使用しているが、他のプリン核酸塩基も同様に使用できる。

#### 〔実施例 1〕ヌクレオシド類縁体の合成

##### (1) 2', 3'-O-シクロヘキシリデン-4'-(p-トルエンスルホニルオキシメチル) ウリジン(2)の合成

窒素気流下、文献既知化合物 1 ( 956 mg, 2.70 mmol ) の無水ピリジン溶液 ( 13.5 ml ) に室温で p -トルエンスルホニルクロリド (771 mg, 4.05 mmol) を加え、60 °C で 5 時間撹拌した。

反応溶液に飽和重曹水を加えた後、ベンゼンで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で 1 回洗浄後、無水  $\text{MgSO}_4$  にて乾燥した。溶媒を減圧留去し、ベンゼンで 3 回共沸し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3$ :  $\text{MeOH}$  = 15:1) により精製後、ベンゼン-ヘキサンにて再沈澱し、白色粉末として化合物 2 (808 mg, 1.59 mmol, 59%) を得た。

化合物 2: 白色粉末 mp 104-106 °C (ベンゼン-ヘキサン). IR  $\nu$  (KBr): 3326, 2929, 2850, 1628, 1577, 1544, 1437, 1311, 1244  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $d_6$ -acetone):  $\delta$  1.45-1.67 (10H, m), 2.45 (3H, s), 3.71 (2H, ABq,  $J$  = 12 Hz), 4.20 (2H, ABq,  $J$  = 11 Hz), 4.92 (1H, d,  $J'$  = 6 Hz), 5.05, 5.06 (1H, dd,  $J$  = 4, 6 Hz), 5.60 (1H, d,  $J$  = 7 Hz), 5.75 (1H, d,  $J$  = 4 Hz), 7.48 (2H, d,  $J$  = 8 Hz), 7.77 (1H, d,  $J$  = 8 Hz), 7.81 (2H, d,  $J$  = 8 Hz), 10.10 (1H, s, ).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $d_6$ -acetone):  $\delta$  21.5, 24.1, 24.5, 25.5, 34.8, 36.9,

63.5, 69.7, 82.5, 84.7, 87.8, 92.9, 102.9, 115.4, 128.8, 130.8, 133.9, 142.7, 145.9, 151.3, 163.5. Mass(EI):  $m/z$  481( $M^+ - H_2O$ ).

Anal. Calcd for  $C_{23}H_{28}N_2O_9S \cdot 1/3 H_2O$ : C, 53.69; H, 5.61; N, 5.44; S, 6.22. Found: C, 53.99; H, 5.48; N, 5.42; S, 6.10.

5 (2) 4'-(p-トルエンスルホニルオキシメチル)ウリジン(3)の合成

化合物2 (107 mg, 0.21 mmol)をTFA-H<sub>2</sub>O (98:2, 1 ml)中室温で10分間攪拌した。反応溶液を減圧留去し、EtOHを加えて3回共沸した。得られた粗成續体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー( $CHCl_3$ :MeOH = 10:1)により精製し、化合物3 (85.0 mg, 0.20 mmol, 94%)を得た。

10 化合物3: 白色粉末 mp 119-120 °C. IR  $\nu$  (KBr): 3227, 3060, 2932, 2837, 1709, 1508, 1464, 1252, 978, 835, 763, 556  $cm^{-1}$ . <sup>1</sup>H-NMR ( $d_6$ -acetone):  $\delta$  2.31 (3H, s), 2.84 (3H, s), 3.71 (2H, s), 4.13, 4.20 (2H, ABq, J = 11 Hz), 4.28, 4.31 (1H, dd, J' = 9, 6 Hz), 4.36 (1H, d, J' = 6 Hz), 5.54 (1H, d, J' = 8 Hz), 5.75 (1H, d, J = 7 Hz), 7.32 (2H, d, J = 8 Hz), 7.67  
15 (2H, d, J = 8 Hz), 7.70 (1H, d, J' = 8 Hz), 10.14 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR ( $d_6$ -acetone):  $\delta$  21.5, 63.7, 70.8, 72.7, 74.6, 86.8, 88.8, 103.1, 128.8, 130.7, 133.9, 141.7, 145.8, 151.8, 163.9. Mass (EI):  $m/z$  256 ( $M^+ - OTs$ ).

(3) 2', 3'-O-ベンジリデン-4'-(p-トルエンスルホニルオキシメチル)ウリジン(4)の合成

20 窒素気流下、化合物3 (400 mg, 0.93 mmol)にベンズアルデヒド (2.4 ml, excess)、塩化亜鉛 (670 mg, 5.0 mmol)を加え室温にて5時間攪拌した。反応を飽和重曹水により止め、クロロホルムで抽出し、飽和重曹水、水、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後シリカゲルカラムクロマトグラフィー( $CHCl_3$ :MeOH = 40:1)により精製し、化合物4 (380 mg,  
25 0.74 mmol, 80%)を得た。

化合物4: 白色粉末. mp 99-102 °C ( $CH_2Cl_2$ -ヘキサン).  $[\alpha]_D^{23}$  -26.7 ° (c = 1.0,  $CHCl_3$ ). IR  $\nu$  (KBr): 3059, 1691, 1460, 1362, 1269, 1218, 1177  $cm^{-1}$ . <sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2.41 (3H, s), 3.25 (1H, br), 3.79 (2H, m), 4.19

(2H, s), 5.09 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 5.28 (1H, dd,  $J = 3, 7$  Hz), 5.60 (1H, d,  $J = 4$  Hz), 5.73 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 5.94 (1H, s), 7.24 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 7.42 (5H, br), 7.69 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 9.11 (1H, br).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  21.6, 63.5, 68.3, 77.2, 82.8, 84.2, 87.7, 94.9, 102.6, 107.5, 126.5, 127.9, 128.5, 129.7, 132.2, 135.0, 143.0, 145.0, 150.4, 163.5.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9\text{S} \cdot 1/3 \text{H}_2\text{O}$ : C, 55.17; H, 4.76; N, 5.36; S, 6.14. Found: C, 55.19; H, 4.66; N, 5.29; S, 5.98.

(4) 3'-O-ベンジル-4'-(p-トルエンスルホンルオキシメチル)

#### 10 ウリジン (5) の合成

窒素気流下、化合物 4 (150 mg, 0.29 mmol) のアセトニトリル溶液 (3 ml) にシアノ水素化ホウ素ナトリウム (92 mg, 1.5 mmol) を室温にて加えた。その後、四塩化チタン (0.16 ml, 1.5 mmol) を氷冷下で滴下し室温にて 15 時間攪拌した。反応液をクロロホルムに希釈して飽和重曹水、水、飽和食塩水で洗浄したのち有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後シリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 25:1$ ) により精製し、化合物 5 (112 mg, 0.22 mmol, 75%) を得た。

化合物 5: 無色結晶. mp 195-197°C (AcOEt-ヘキサン).  $[\alpha]_D^{23} -14.6^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). IR  $\nu$  (KBr): 3033, 2885, 2820, 1726, 1470, 1361, 1274, 1175, 1119  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.40 (3H, s), 3.59-3.77 (3H, m), 4.10, 4.24 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.32 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 4.56 (2H, m), 4.69 (1H, d,  $J = 11$  Hz), 5.52 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 5.67 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 7.24-7.29 (7H, m), 7.48 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 7.70 (2H, d,  $J = 9$  Hz), 9.91 (1H, s).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  21.6, 63.2, 69.2, 73.6, 74.6, 78.1, 86.6, 92.9, 102.5, 127.9, 128.2, 128.3, 128.6, 129.9, 132.3, 136.9, 142.4, 145.2, 150.7, 163.8.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_9\text{S}$ : C, 55.59; H, 5.05; N, 5.40; S, 6.18.

Found: C, 55.41; H, 5.02; N, 5.32; S, 6.15.

(5) 3'-O-ベンジル-2'-O, 4'-C-メチレンウリジン (6) の合成  
窒素気流下、化合物 5 (80 mg, 0.16 mmol) の無水 THF 溶液 (1.5 ml) に室温で NaHMDS (3.2 mmol) の無水ベンゼン懸濁液 (0.7 ml) を加え、室温で 20 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、CHCl<sub>3</sub> にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10:1) にて精製後、MeOH にて再結晶し、化合物 6 (41 mg, 0.10 mmol, 61%) を得た。

化合物 6: 無色結晶. mp 217-219 °C (MeOH).  $[\alpha]_D^{23} +108.4^\circ$  (c = 0.3, MeOH). IR  $\nu$  (KBr): 3059, 2951, 1688, 1459, 1271, 1053 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO)  $\delta$ : 3.75, 3.85 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.77 (2H, d, J = 5 Hz), 3.92 (1H, s), 4.44 (1H, s), 4.60 (2H, s), 5.39 (1H, t, J = 5 Hz), 5.48 (1H, s), 7.31 (5H, m), 7.72 (1H, d, J = 8 Hz), 11.37 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO):  $\delta$  56.0, 71.1, 71.6, 75.8, 76.5, 86.5, 88.3, 100.9, 127.4, 127.6, 128.2, 137.9, 139.0, 150.0, 163.3. Mass(EI): m/z 346 (M<sup>+</sup>, 1.1).

Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 58.96; H, 5.24; N, 8.09.

Found: C, 58.67; H, 5.23; N, 8.05.

(6) 2'-O, 4'-C-メチレンウリジン (7) の合成

化合物 6 (25 mg, 0.072 mmol) のメタノール溶液 (2.5 ml) に 10% Pd-C (25 mg) を加え、水素気流下、常圧にて 15 時間攪拌した。反応液を濾過し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10:1 then 5:1) にて精製し、7 (18.3 mg, quant.) を得た。

化合物 7: 無色結晶. mp 239-243 °C (MeOH).  $[\alpha]_D^{23} +92.2^\circ$  (c = 0.3, MeOH). IR  $\nu$  (KBr): 3331, 3091, 3059, 2961, 1689, 1463, 1272, 1049 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 3.76, 3.96 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.90 (2H, s), 4.04 (1H, s), 4.28 (1H, s), 5.55 (1H, s), 5.69 (1H, d, J = 8 Hz), 7.88 (1H, d, J = 8 Hz).

Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 46.88; H, 4.72; N, 10.93.

Found: C, 46.74; H, 4.70; N, 10.84.

(7) 5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-O,4'-C-メチレン  
ウリジン (8) の合成

化合物 7 (140 mg, 0.53 mmol) に無水ピリジンを加えて 3 回共沸した後、無水ピリジン溶液 (1.5 ml) とし、窒素気流下、室温で 4,4'-ジメトキシトリチルクロリド (210 mg, 0.63 mmol)、DMA P (6.5 mg, 0.053 mmol) を加え室温で 5 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 40:1) により精製し、化合物 8 (230 mg, 0.34 mmol, 66%) を得た。

化合物 8 : 白色粉末, mp 117-120 °C (CHCl<sub>3</sub>).  $[\alpha]_D^{23} +17.2^\circ$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>). IR  $\nu$  (KBr): 3393, 3101, 2885, 1689, 1464, 1272, 1047 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.59 (1H, br), 3.56 (2H, q, J = 7, 11 Hz), 3.87 (1H, d, J = 7 Hz), 4.26 (1H, s), 4.47 (1H, s), 5.60 (1H, d, J = 9 Hz), 5.63 (1H, s), 5.84 (4H, d, J = 9 Hz), 7.22-7.45 (9H, m), 7.93 (1H, d, J = 9 Hz).

[実施例 2] ヌクレオシド類縁体の合成

(1) メチル=5-O-(t-ブチルジフェニルシリル)-4-ヒドロキシ  
メチル-2,3-O-イソプロピリデン- $\beta$ -D-リボフラノシド  
(14) の合成

窒素気流下、文献既知化合物 13 (2.00g, 8.54mmol) の無水 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 溶液 (40 ml) に氷冷下で Et<sub>3</sub>N (2.62ml, 18.8mmol)、t-ブチルジフェニルシリルクロリド (4.88ml, 18.8mmol) を加え、室温で 13 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、AcOEt で 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で 1 回洗浄後、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> にて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : AcOEt = 5:1) により精製し、無色油状物質 14 (2.82g, 5.9 mmol, 70%) を得た。

$[\alpha]_D^{17} -16.2^\circ$  (c=0.52, CHCl<sub>3</sub>) IR  $\nu$  (KBr): 3510, 3061, 2938, 2852, 1465, 1103 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.09(9H, s), 1.28(3H, s), 1.49(3H, s), 3.22(3H,

s), 3.67, 3.76(2H, AB, J=11Hz), 3.88, 3.93(2H, AB, J=11Hz), 4.49(1H, d, J=6Hz), 4.57(1H, d, J=6Hz), 4.93(1H, s), 7.38-7.43(6H, m), 7.67(4H, d, J=7Hz).

$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.2, 24.4, 25.9, 26.9, 55.0, 62.9, 64.8, 82.2, 85.9, 88.7, 108.6, 112.6, 127.8, 129.9, 133.0, 135.7.

- 5 Anal. Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>Si · 1/4 H<sub>2</sub>O: C, 65.45; H, 7.71. Found: C, 65.43; H, 7.59.

(2) メチル=5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2,3-O-  
イソプロピリデン-4-(*p*-トルエンスルホニルオキシメチル)-  
-β-リボフラノシド(15)の合成

- 10 窒素気流下、化合物(2.13g, 4.51mmol)の無水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液(15ml)に室温でEt<sub>3</sub>N(3.92g, 28.0mmol)、*p*-トルエンスルホニルクロリド(1.34g, 7.22mmol)、4-ジメチルアミノピリジン(90mg, 0.72mmol)を加え、室温で17時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、AcOEtで3回抽出した。有機層を飽和食塩水で1回洗浄後、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>にて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:AcOEt=10:1)により精製し、無色油状物質15(2.76g, 4.42mmol, 98%)を得た。

[α]<sub>D</sub><sup>17</sup>-3.82° (c=0.56, CHCl<sub>3</sub>) IRν(KBr): 2934, 2852, 1369, 1104cm<sup>-1</sup>.

- $^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.02(9H, s), 1.20(3H, s), 1.32(3H, s), 2.41(3H, s), 3.09(3H, s), 3.51, 3.77(2H, AB, J=10Hz), 4.34(1H, d, J=6Hz), 4.25, 4.39(2H, AB, J=9Hz), 4.47(1H, d, J=6Hz), 4.77(1H, s), 7.28, 7.81(4H, AB, J=9Hz), 7.39-7.44(6H, m), 7.62-7.65(4H, m), 7.81(2H, d, J=9Hz).

$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.2, 21.6, 24.5, 25.8, 26.8, 54.9, 62.7, 68.8, 81.9, 85.6, 87.5, 108.7, 112.8, 127.7, 127.8, 128.2, 129.6, 129.9, 132.9, 135.6, 144.4.

- 25 Anal. Calcd for C<sub>33</sub>H<sub>42</sub>O<sub>8</sub>SSi: C, 63.23; H, 6.75; S, 5.11. Found: C, 62.99; H, 6.53; S, 5.13.

(3) メチル=5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-4-(*p*-トルエンスルホニルオキシメチル)-β-D-リボフラノシド(16)の合成

化合物 1 5 (645mg, 1.03mmol) の THF-H<sub>2</sub>O [11ml, 8:3(v/v)] 溶液に室温でトリフロロ酢酸(14ml)を加え、室温で 20 分撹拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (hexane:AcOEt=5:1) により精製し、無色油状物質 1 6 (464mg, 0.79mmol, 77%) を得た。

5  $[\alpha]_D^{17} -35.8^\circ$  (c=1.90, CHCl<sub>3</sub>) IR  $\nu$  (KBr): 3499, 3051, 2931, 2840, 1594, 1468, 1362, 1109cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.02(9H, s), 2.42(3H, s), 3.16(3H, s), 3.54, 3.70(2H, AB, J=10Hz), 3.97(1H, d, J=5Hz), 4.18(1H, d, J=5Hz), 4.26, 4.39(2H, AB, J=10Hz), 4.73(1H, s), 7.30(2H, d, J=8Hz), 7.36-7.44(6H, m), 7.59-7.66(4H, m),  
10 7.78(2H, d, J=8Hz).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.2, 21.6, 26.7, 55.2, 66.5, 69.6, 74.0, 75.2, 76.5, 84.8, 107.5, 127.7, 128.0, 129.8, 132.6, 132.7, 132.8, 135.5, 135.6, 144.9.

Anal. Calcd for C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>SSiO<sub>8</sub>·1/4 H<sub>2</sub>O: C, 60.94; H, 6.56. Found: C, 60.94; H, 6.4

15 3.

(4) メチル=5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2-O, 4-C-メチレン- $\beta$ -D-リボフラノシド (17) 及び

メチル=5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-3-O, 4-C-メチレン- $\beta$ -D-リボフラノシド (18) の合成

20 窒素気流下、化合物 1 6 (194mg, 0.33mmol) の無水 THF 溶液 (4ml) に室温で NaHMDS (3.30mmol) の benzene 懸濁液 (1.6ml) を加え、室温で 1 時間撹拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、反応溶媒を留去し、AcOEt で 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で 1 回洗浄後、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> にて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:AcOEt=5:  
25 1) により精製し、無色油状物質 1 7 (48mg, 0.116mmol, 35%) 及び無色油状物質 1 8 (59mg, 0.142mmol, 43%) を得た。

化合物 1 7: IR  $\nu$  (KBr): 3438, 3064, 1103, 1036cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.08(9H, s), 2.04(1H, br s), 3.39(3H, s), 3.65,

3.98(2H, AB, J=8Hz), 3.95, 4.02(2H, AB, J=12Hz), 4.02(1H, s), 4.30(1H, s), 4.79(1H, s), 7.38-7.46(6H, m), 7.65-7.69(4H, m).

$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.2, 26.7, 55.0, 60.7, 71.2, 73.1, 79.9, 85.5, 104.3, 127.8, 129.9, 130.0, 132.9, 135.6, 135.7.

5 Anal. Calcd for C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>Si·1/4 H<sub>2</sub>O: C, 65.68; H, 7.34. Found: C, 65.98; H, 7.23.  
化合物 18: IR $\nu$  (KBr): 3456, 3058, 2938, 2852, 1467, 1108cm<sup>-1</sup>.

$^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.10(9H, s), 3.26(3H, s), 3.71(2H, s), 4.02(1H, d, J=6Hz), 4.35, 4.95(2H, d, J=7Hz), 5.01(1H, s), 5.11(1H, d, J=6Hz), 7.38-7.44(6H, m), 7.66(4H, d, J=7Hz).

10  $^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.3, 26.8, 55.4, 63.7, 75.1, 77.9, 84.5, 86.3, 111.9, 127.8, 128.0, 129.9, 132.9, 133.0, 135.6, 135.8, 135.9.

Anal. Calcd for C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>Si·1/4 H<sub>2</sub>O: C, 65.91; H, 7.34. Found: C, 66.07; H, 7.14.

(5) メチル=3-O-アセチル-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2-O, 4-C-メチレン- $\beta$ -D-リボフラノシド (19)

15 の合成

窒素気流下、化合物 17 (704mg, 1.70mmol) の無水ピリジン溶液 (10ml) に室温で無水酢酸 (0.38ml, 4.08mmol)、4-ジメチルアミノピリジン (21mg, 0.170mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、AcOEt で 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で 1 回洗浄後、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> にて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt=7:1) により精製し、無色油状物質 19 (665mg, 1.46mmol, 86%) を得た。

20  $[\alpha]_D^{17}$ -34.3° (c=0.93, CHCl<sub>3</sub>) IR $\nu$  (KBr): 3438, 3064, 2934, 1749, 1468, 1103, 1036cm<sup>-1</sup>.

$^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.99(9H, s), 1.97(3H, s), 3.34(3H, s), 3.69, 3.86(2H, AB, J=8Hz), 3.86(2H, s), 4.17(1H, s), 4.77(1H, s), 5.06(1H, s), 7.28-7.39(6H, m), 7.58-7.63(4H, m).

$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.3, 20.9, 26.7, 55.0, 60.3, 72.0, 73.6, 78.3, 85.3, 104.4, 127.7, 129.8, 133.0, 135.6, 169.8.



Anal. Calcd for  $C_{25}H_{32}O_6Si \cdot 1/4 H_2O$ : C, 65.12; H, 7.10. Found: C, 65.27; H, 7.00.

(6) 5'-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン(20)の合成

窒素気流下、化合物19 (109.2g, 0.239mmol)の無水 $CH_3CN$ 溶液(2ml)に室温でO, O'-ビストリメチルシリルチミン(154mg, 0.598mmol)を加えた後、氷冷下でトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(0.82ml, 8.74mmol)の1,1-ジクロロエタン(0.31ml)溶液を加え、室温で18時間攪拌した。反応溶液を $CH_2Cl_2$ で希釈し、飽和重曹水を加えた後、AcOEtで3回抽出した。有機層を飽和食塩水で1回洗浄後、無水 $Na_2SO_4$ にて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:AcOEt=3:1)により精製し、無色油状物質20 (87.7mg, 0.173mmol, 70%)を得た。

IR $\nu$ (KBr): 3048, 2935, 2852, 1749, 1466, 1369, 1234, 1108, 1040 $cm^{-1}$ .

$^1H-NMR$  ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.06(9H, s), 1.94(3H, s), 2.98(1H, br s), 3.63, 4.00(2H, AB,  $J=10Hz$ ), 3.72(1H, d,  $J=7Hz$ ), 3.82-3.84(2H, m), 4.30(1H, s), 5.25(1H, s), 7.40-7.46(6H, m), 7.60(4H, d,  $J=6Hz$ ), 7.66(1H, s), 9.68(1H, br s).

## [実施例3] ヌクレオシド類縁体の合成 (別法)

(1) 3-*O*-ベンジル-5-*O*-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-4-(ヒドロキシメチル)-1, 2-*O*-イソプロピリデン- $\alpha$ -D-エリスロペンチフラノース (32) の合成

5 窒素気流下、氷冷下で前記文献 5) に従って調整した化合物 31 (2.50 g, 8.08 mmol) の塩化メチレン溶液 (50 ml) に、トリエチルアミン (3.71 ml, 26.6 mmol)、*t*-ブチルジフェニルシリルクロリド (6.94 ml, 26.7 mmol) を加え、室温で 10.5 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン、1:4  $\rightarrow$  1:3) により精製し、白色固体 (32) (2.97 g, 5.41 mmol, 67 %) を得た。

mp. 98 - 99 °C (ヘキサン).  $[\alpha]_D^{20} + 54.8^\circ$  ( $c = 1.12$ , アセトン). IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 3553, 2936, 1463, 1379, 1107  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.13 (9H, s), 1.50 (3H, s), 1.78 (3H, s), 2.56 (1H, t,  $J = 7$  Hz), 3.82, 3.92 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 3.94 (2H, t,  $J = 6$  Hz), 4.57 (1H, d,  $J = 5$  Hz), 4.64, 4.95 (2H, AB,  $J = 12$  Hz), 4.83 (1H, dd,  $J = 4, 5$  Hz), 5.95 (1H, d,  $J = 4$  Hz), 7.44-7.55 (11H, m), 7.72-7.78 (4H, m).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.2, 26.2, 26.5, 26.8, 63.2, 65.4, 72.5, 77.9, 79.1, 87.4, 104.4, 113.7, 127.6, 127.7, 128.0, 128.5, 129.5, 129.7, 132.9, 133.1, 134.7, 135.5, 137.2.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{Si}$ : C, 70.04; H, 7.38. Found: C, 70.19; H, 7.35.

(2) 3-*O*-ベンジル-5-*O*-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-4-(*p*-トルエンスルホニルオキシメチル)-1, 2- $\alpha$ -D-エリスロペンチフラノース (33) の合成

窒素気流下、氷冷下で 32 (250 mg, 0.456 mmol) の塩化メチレン溶液に、トリエチルアミン (395  $\mu\text{l}$ , 2.83 mmol)、*p*-トルエンスルホニルクロリド (139.2

mg, 0.730 mmol) 及び 4-ジメチルアミノピリジン (8.92 mg, 0.0730 mmol) を加え、室温で 15.5 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン, 1:6) により精製し、淡黄色油状物質 (33) (310.6 mg, 0.442 mmol, 97 %) を得た。

$[\alpha]_D^{20} + 16.0^\circ$  ( $c = 0.44$ , アセトン). IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 2935, 1595, 1462, 1363, 1174, 1106  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.08 (9H, s), 1.40 (3H, s), 1.46 (3H, s), 2.48 (3H, s), 3.68, 3.83 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.45 (2H, dd,  $J = 4, 5$  Hz), 4.64, 4.81 (2H, AB,  $J = 12$  Hz), 4.68 (1H, dd,  $J = 4, 5$  Hz), 5.81 (1H, d,  $J = 4$  Hz), 7.32 (2H, d,  $J = 8$  Hz), 7.42-7.72 (15H, m), 7.82, (2H, d,  $J = 8$  Hz), 7.66 (4H, m), 7.72 (2H, d,  $J = 8$  Hz).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 19.1, 21.5, 26.1, 26.4, 26.7, 64.4, 70.0, 72.5, 78.1, 78.9, 85.4, 104.2, 113.6, 127.3, 127.7, 127.9, 128.0, 128.4, 129.6, 129.7, 129.8, 132.7, 132.8, 135.5, 137.2, 144.4. MS (EI)  $m/z$  : 646 ( $\text{M}^+ - \text{t-Bu}$ ). High-MS (EI) : Calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{O}_8\text{SSi}$  ( $\text{M}^+ - \text{t-Bu}$ ) : 645.1978, Found : 645.1969.

(3) 1. 2-ジ-*O*-アセチル-3-*O*-ベンジル-5-*O*-*t*-ブチルジフェニルシリル-4-(*p*-トルエンスルホニルオキシメチル)- $\alpha$ -および- $\beta$ -D-リボフラノース (34) の合成

窒素気流下、34 (3.70 g, 5.27 mmol) の酢酸溶液 (56 ml) に無水酢酸 (6.0 ml, 63.6 mmol) 及び濃硫酸 (56  $\mu\text{l}$ , 1.10  $\mu\text{mol}$ ) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応溶液を氷水 (300 ml) にあけて 30 分間攪拌した後、飽和食塩水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を硫酸マグネシウムにて乾燥した。溶媒を留去して得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン, 2:1) により精製し、黄色油状物質 (34) (3.36 g, 4.53 mmol, 86 %) を  $\alpha : \beta = 1:4$  の混合物として得た。

IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 2934, 2863, 1751, 1365, 1217, 1106  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )

[ $\beta$ 体]  $\delta$ : 1.02 (9H, s), 1.77 (3H, s), 1.98 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.61, 3.76 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.21-4.58 (5H, m), 5.26 (1H, d,  $J = 5$  Hz), 5.94 (1H, s), 7.15-7.59 (13H, m), 7.58-7.66 (4H, m), 7.72 (2H, d,  $J = 8$  Hz)

[ $\alpha$ 体] d: 1.02 (9H, s), 1.98 (3H, s), 2.36 (3H, s), 3.48, 3.58 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.21-4.58 (5H, m), 5.12 (1H, dd,  $J = 5, 6$  Hz), 6.33 (1H, d,  $J = 5$  Hz), 7.15-7.59 (13H, m), 7.58-7.66 (4H, m), 7.72 (2H, d,  $J = 8$  Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14.2, 19.3, 20.5, 20.8, 21.6, 26.7, 26.8, 60.3, 64.8, 69.1, 73.6, 74.1, 78.6, 85.3, 97.4, 127.4, 127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.2, 128.3, 128.4, 129.5, 129.6, 1289.8, 129.9, 132.4, 132.8,

132.9, 135.4, 135.5, 135.6, 136.9, 144.5, 168.7, 169.4. High-MS(FAB) : Calcd for  $\text{C}_{40}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{SSiNa}$  ( $\text{M}^+ + \text{Na}$ ) : 769.2479, Found : 769.2484.

(4) 2'- $\text{O}$ -アセチル-3'- $\text{O}$ -ベンジル-5'- $\text{O}$ - $t$ -ブチルジフェニルシリル-4'- $\text{p}$ -トルエンスルホニルオキシメチル-5-メチルウリジン (35) の合成

窒素気流下、氷冷下で 34 (1.88g, 2.52 mmol) の 1,2-ジクロロエタン溶液 (26 ml) に 2TMS $\cdot$ T (1.04 g, 4.03 mmol) 及びトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホナート (730  $\mu\text{l}$ , 4.03 mmol) を加え、室温で 17 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、セライト濾過した後、母液をクロロホルムで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去して得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン, 2:3) により精製し、白色粉末 (35) (2.00 g, 2.44 mmol, 97 %) を得た。

mp. 70 - 71.5  $^{\circ}\text{C}$ . [ $\alpha$ ] $_{\text{D}}^{24} + 4.58^{\circ}$  ( $c = 1.25$ , アセトン). IR  $\nu_{\text{max}}$  (KBr) : 3059, 2934, 1694, 1465, 1368, 704  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.18 (9H, s), 1.63 (3H, d,  $J = 1$  Hz), 2.10 (3H, s), 2.42 (3H, s), 3.73, 3.86 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.12, 4.20 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.44, 4.57 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.45 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 5.38 (1H, t,  $J = 6$  Hz), 6.02 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 7.21-7.60 (13H, m), 7.62-7.69 (7H, m), 8.91 (1H, br s).  $^{13}\text{C-NMR}$

(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$ : 11.9, 19.3, 20.6, 21.6, 27.0, 65.3, 68.6, 74.1, 74.8, 77.2, 77.3, 86.0, 86.4, 111.6, 127.9, 128.0, 128.2, 128.5, 129.7, 130.1, 130.2, 131.8, 132.3, 132.5, 135.3, 135.5, 135.6, 136.8, 144.9, 150.2, 163.4, 170.2. MS (FAB) m/z : 813 (M<sup>+</sup>+H).

5 Anal. Calcd for C<sub>43</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>SSi·2H<sub>2</sub>O: C, 60.83; H, 6.17; N, 3.30. Found : C, 60.55; H, 5.78; N, 3.22.

(5) 3'-O-ベンジル-5'-O-t-ブチルジフェニルシリル-4'-p-  
ートルエンシルホニルオキシメチル-5-メチルウリジン (36) の合成

10 氷冷下、35 (250 mg, 0.308 mmol) のメチルアルコール溶液 (4 ml) に炭酸  
カリウム (12.75 mg, 0.0923 mmol) 及び水 (0.5 ml) を加え、室温で 22 時間  
攪拌した。氷冷下、反応溶液に酢酸を加えて中和した後、溶媒を減圧留去した。  
残渣に水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、  
硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去した後、得られた粗成績体をシリカ  
15 ゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン, 3:2) により精製し、白色粉  
末 (36) (216.7 mg, 0.283 mmol, 92 %) を得た。

mp. 74 - 77 °C. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 5.15 ° (c = 1.23, CHCl<sub>3</sub>). IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3048, 2934, 1695, 1363, 1181, 1108, 977, 819, 704 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.05 (9H, s), 1.65 (3H, d, J = 1 Hz), 2.39 (3H, s), 3.04 (1H, br d, J = 9 Hz), 3.72 (2H, s), 4.17 (2H, s), 4.18 (1H, d, J = 5 Hz), 4.24-4.32 (1H, m), 4.54, 4.62 (2H, AB, J = 11 Hz), 5.62 (1H, d, J = 6 Hz), 7.19-7.69 (20H, m), 8.46 (1H, br s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$ : 12.1, 19.4, 26.9, 58.8, 72.0, 72.2, 75.8, 76.7, 87.4, 88.8, 110.4, 127.7, 127.9, 128.1, 128.2, 128.5, 128.7, 129.8, 130.0, 130.1, 132.2, 134.3, 135.3, 135.5, 136.8, 149.8, 163.9. MS (FAB) m/z : 771 (M<sup>+</sup>+H).

25 Anal. Calcd for C<sub>41</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>SSi: C, 63.41; H, 6.16; N, 3.51; S, 3.95. Found : C, 63.87; H, 6.01; N, 3.63; S, 4.16.

(6) 3'-O-ベンジル-5'-O-t-ブチルジフェニルシリル-2'-O,

## 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (37) の合成

窒素気流下、氷冷下で 36 (1.86 g, 2.42 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (30 ml) にナトリウムビス (トリメチルシリル) アミド (1.0 M in THF, 8.47 ml, 8.47 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水 (14 ml)

- 5 を加えた後、溶媒を減圧留去した。残渣に水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン, 2:3) により精製し、白色粉末 (37) (1.42 g, 2.37 mmol, 98 %) を得た。  
mp. 70.5-72 °C.  $[\alpha]_D^{22} + 52.47^\circ$  (c = 1.025, アセトン). IR  $\nu_{\max}$  (KBr)  
10 : 2936, 1694, 1465, 1275, 1106, 1055, 809, 704  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.21 (9H, s), 1.76 (3H, s), 3.88, 4.07 (2H, AB, J = 8 Hz), 4.07, 4.15 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.16 (1H, s), 4.66, 4.80 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.76 (1H, s), 7.34-7.79 (16H, m), 10.0 (1H, br s). MS (FAB) m/z : 599 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).  
Anal. Calcd for  $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : C, 64.33; H, 6.03; N, 4.41. Found :  
15 C, 64.58; H, 6.15; N, 4.28.

## (7) 3'-O-ベンジル-2'-O-, 4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (38) の合成

窒素気流下、37 (188.7 mg, 0.316 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (1 ml) に、テトラブチルアンモニウムフルオリド (1.0 M in THF, 379  $\mu\text{l}$ , 0.379  $\mu\text{mol}$ ) を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。反応溶液を減圧留去して得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOEt-ヘキサン, 1:1→1:0) により精製し、白色粉末 (38) (94.6 mg, 0.262 mmol, 83 %) を得た。

- IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3424, 3183, 3063, 2950, 1691, 1463, 1273, 1057, 734  $\text{cm}^{-1}$ .  
 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.90 (3H, d, J = 1 Hz), 3.83, 4.05 (2H, AB, J = 8 Hz)  
25 , 3.93, 4.02 (2H, AB, J = 12 Hz), 3.94 (1H, s), 4.53 (1H, s), 4.56, 4.58 (2H, AB, J = 12 Hz), 5.65 (1H, s), 7.32 (5H, s), 7.44 (1H, d, J = 1 Hz).  
High-MS (EI) :

Calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_6$  ( $\text{M}^+$ ) : 360.1321, Found : 360.1312.

(8) 2'-O, 4'-C-メチレン-5-メチレンウリジン (39a) の合成  
化合物 38 (86.5 mg, 0.240 mmol) のメチルアルコール溶液 (4 ml) に 20 %  
Pd(OH)<sub>2</sub>-C (86.5 mg) を加え、水素気流下常圧にて 14.5 時間攪拌した。反応溶  
液を濾過した後、溶媒を減圧留去して無色結晶 (39) (62.5 mg, 0.230 mmol,  
5 96 %) を得た。

mp. 194-195 °C.  $[\alpha]_D^{20} + 53.7^\circ$  (c = 1.02, EtOH). IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 332  
3, 3163, 3027, 2889, 2826, 1689, 1471, 1276, 1057 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD)  
 $\delta$  : 1.89 (3H, q, J = 1 Hz), 3.74, 3.95 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.90 (1H, s),  
4.07 (1H, s), 4.26 (1H, s), 5.53 (1H, s), 7.74 (1H, d, J = 1 Hz). <sup>13</sup>C-  
10 NMR (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_c$  : 12.6, 57.6, 70.3, 72.4, 80.8, 88.3, 90.4, 110.7, 136.8,  
151.8, 166.5.

[実施例 4]

(1) 2'-O-アセチル-3'-O-ベンジル-5'-O-t-ブチルジフェ  
ニルシリル-4'-p-トルエンスルホニルオキシメチル-N<sup>6</sup>-ベンゾ  
15 イルアデノシン (40) の合成

文献 6) (H. Vorbruggen, K. Krolikiewicz and B. Bennua, Chem., Ber., 114,  
1234-1255 (1981)) に従って調整した 2TMS·A<sup>Bz</sup> (128.7 mg, 0.336 mmol) に窒  
素気流下、室温で 34 (250 mg, 0.336 mmol) の 1, 2-ジクロロエタン溶液 (5.0  
ml) 及びトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホナート (6.7  $\mu$ l, 0.0336  
20 mmol) を加え、26 時間加熱還流した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、塩化  
メチレンで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて  
乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグ  
ラフィー (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 30:1) により精製し、白色粉末 (40) (234.5 mg, 0.  
253 mmol, 75 %) を得た。

25 mp. 77-78 °C (AcOEt / ヘキサン).  $[\alpha]_D^{24} - 13.2^\circ$  (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>). IR  
 $\nu_{\max}$  (KBr) : 3058, 2934, 1749, 1703, 1606, 1105 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  
 $\delta$  : 0.99 (9H, s), 2.04 (3H, s), 2.38 (3H, s), 3.74, 3.85 (2H, AB, J = 1  
1 Hz), 4.31, 4.43 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.52, 4.58 (2H, AB, J = 11 Hz),

4.81 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 5.94 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 6.04 (1H, d,  $J = 5$  Hz),  
 7.18 - 7.61 (20H, m), 7.69 (2H, d,  $J = 8$  Hz), 7.99 (1H, s), 8.01 (2H, d,  
 $J = 7$  Hz), 8.56 (1H, s), 8.99 (1H, br s).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  c: 19.1, 20.  
 5, 21.5, 26.7, 64.1, 68.4, 74.0, 74.6, 77.9, 86.57, 86.64, 123.4, 127.7,  
 127.8, 127.9, 128.1, 128.5, 128.8, 129.6, 129.9, 132.0, 132.3, 132.6, 1  
 32.7, 133.5, 135.4, 135.5, 136.8, 142.0, 144.7, 149.6, 151.2, 152.6, 164.  
 5, 169.8. MS (FAB)  $m/z$  : 926 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

(2) 3'-O-ベンジル-5'-O-*t*-ブチルジフェニルシリル-4'-p  
 トルエンスルホニルオキシメチル-N<sup>6</sup>-ベンゾイルアデノシン (41)  
 の合成

化合物 40 (167.9 mg, 0.182 mmol) のメチルアルコール溶液 (3.0 ml) に室  
 温で炭酸カリウム (15.0 mg, 0.109 mmol) を加えた後、室温で 15 分攪拌した。  
 反応溶液に濃塩酸を加えて溶液を中和した後、塩化メチレンで 3 回抽出した。  
 有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、  
 得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3$ -MeOH, 30:1)  
 により精製し、白色粉末 (41) (140.5 mg, 0.160 mmol, 88 %) を得た。

mp. 82- 83 °C (AcOEt-ヘキサン).  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 6.02^\circ$  ( $c = 0.96$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). IR  
 $\nu_{\text{max}}$  (KBr) : 3306, 3066, 2935, 2859, 1701, 1611  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  
 $\delta$  : 0.98 (9H, s), 2.37 (3H, s), 3.76 (2H, s), 4.39, 4.45 (1H, AB,  $J = 11$   
 Hz), 4.54 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 4.67, 4.76 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.85 (1H,  
 dd,  $J = 5, 6$  Hz), 5.79 (1H, d,  $J = 5$  Hz), 7.20 - 7.58 (21H, m), 7.73 (2H,  
 d,  $J = 8$  Hz), 7.80 (1H, s), 7.96 (2H, d,  $J = 8$  Hz), 8.49 (1H, s), 9.18  
 (1H, br s).  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  c: 19.1, 21.6, 26.8, 64.4, 68.9, 74.1, 74.  
 6, 79.2, 86.8, 89.8, 123.1, 127.7, 127.8, 128.0, 128.2, 128.4, 128.6, 12  
 8.8, 129.7, 130.0, 132.1, 132.5, 132.6, 132.8, 133.4, 135.4, 135.5, 136.  
 8, 142.1, 144.8, 149.4, 152.3, 164.5.

(3) 3'-O-ベンジル-5'-O-*t*-ブチルジフェニルシリル-2'-O,  
 4'-C-メチレン-N<sup>6</sup>-ベンジルアデノシン (42) の合成



窒素気流下、4 1 (210.5 mg, 0.238 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (8.0 ml) に室温でナトリウムビス (トリメチルシリル) アミド (1.0 M in THF, 0.58 ml, 0.572 mmol) を加えた後、室温で 3 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、塩化メチレンで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 30:1) により精製し、白色粉末 (4 2) (169.5 mg, 0.238 mmol, quant.) を得た。

mp. 80- 81 °C. IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3259, 3064, 2932, 2858, 1703, 1607 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  : 1.07 (9H, s), 3.95, 4.10 (2H, AB, J = 8 Hz), 4.02 (2 H, d, J = 8 Hz), 4.56, 4.64 (2H, AB, J = 12 Hz), 4.26 (1H, s), 4.86 (1H, s), 6.14 (1H, s), 7.26 - 7.70 (18H, m), 8.04 (2H, d, J = 7 Hz), 8.22 (1 H, s), 8.78 (1H, s), 9.18 (1H, br s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$  : 19.2, 26.5, 26.8, 29.7, 59.2, 72.4, 72.6, 76.5, 76.8, 86.7, 88.6, 123.4, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.4, 128.8, 129.5, 130.0, 132.4, 132.5, 132.8, 133.5, 134.8, 135.2, 135.5, 135.6, 136.8, 140.4, 152.7.

(4) 3' -O-ベンジル-2' -O, 4' -C-メチレン-N<sup>6</sup> -ベンゾイル  
アデノシン (4 3) の合成

化合物 4 2 (173.6 mg, 0.244 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (7.0 ml) に室温でテトラブチルアンモニウムフルオリド (1.0 M in THF, 1.0 ml, 1.0 mmol) を加え、室温で 25 分攪拌した。反応溶液を減圧留去して得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 15:1) により精製し、白色粉末 (4 3) (115.4 mg, 0.244 mmol, quant.) を得た。

mp. 154 - 155 °C (Et<sub>2</sub>O). IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3339, 2944, 1701, 1611 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  : 3.91, 4.13 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.93, 4.01 (2H, AB, J = 12 Hz), 4.38 (1H, s), 4.64 (1H, s), 4.85 (1H, s), 6.08 (1H, s), 7.29 (1 H, s), 7.51 (2H, d, J = 8 Hz), 7.58 (1H, d, J = 7 Hz), 8.05 (2H, d, J = 7 Hz), 8.14 (1H, s), 8.75 (1H, s), 9.50 (1H, br s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$  : 57.1, 72.4, 77.0, 77.1, 86.9, 88.6, 122.9, 127.6, 128.0, 128.1, 128.4,

128.7, 132.8, 133.5, 136.9, 140.5, 149.8, 150.5, 152.8, 165.0.

[実施例5]

(1) 2'-O-アセチル-3'-O-ベンジル-5'-O-t-ブチルジフェ  
ニルシリル-4'-p-トルエンスルホニルオキシメチル-N<sup>2</sup>-イソブ  
チリルグアノシン (44) の合成

前記の文献 6) に従って調整した 3TMS · G<sup>1 Bu</sup> (146.8 mg, 0.336 mmol) に窒  
素気流下、室温で 4 (250 mg, 0.336 mmol) の 1, 2-ジクロロエタン溶液 (5.0  
ml) 及びトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホナート (6.7 μl, 0.0336  
mmol) を加え、15 時間加熱還流した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、塩化  
メチレンで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて  
乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグ  
ラフィー (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 30:1) により精製し、白色粉末 (44) (213.6 mg, 0.2  
35 mmol, 70 %) を得た。

mp. 96 - 97 °C (AcOEt-ヘキサン).  $[\alpha]_D^{24} -11.09^\circ$  (c = 0.97, CHCl<sub>3</sub>). I  
R  $\nu_{\max}$  (KBr): 3152, 3065, 2934, 1746, 1681, 1606 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  
d: 0.96 (9H, s), 1.10 (3H, d, J = 9 Hz), 1.13 (3H, d, J = 9 Hz), 1.98  
(3H, s), 2.36 (3H, s), 2.48 (1H, m), 3.65, 3.72 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.2  
3, 4.43 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.47 (2H, s), 4.63 (1H, d, J = 6 Hz), 5.74  
(1H, t, J = 6 Hz), 5.96 (1H, d, J = 6 Hz), 7.14 - 7.68 (20H, m), 9.15 (1  
H, s), 12.20 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$ : 19.1, 19.3, 19.4, 20.8, 21.9,  
27.0, 27.2, 36.5, 64.5, 68.9, 74.4, 74.9, 76.7, 86.1, 86.7, 122.0, 127.  
6, 127.7, 127.9, 128.1, 128.3, 128.4, 128.8, 130.1, 130.4, 132.3, 132.7,  
132.9, 135.7, 135.8, 137.3, 137.8, 145.2, 147.8, 148.5, 156.2, 170.2, 1  
78.8.

(2) 3'-O-ベンジル-5'-O-t-ブチルジフェニルシリル-4'-p-  
トルエンスルホニルオキシメチル-N<sup>2</sup>-イソブチリルグアノシン  
(45) の合成

化合物 44 (137.0 mg, 0.151 mmol) のメチルアルコール溶液 (3.0 ml) に窒

温で炭酸カリウム (15.8 mg, 0.113 mmol) を加えた後、室温で 45 分攪拌した。反応溶液に濃塩酸を加えて溶液を中和した後、塩化メチレンで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 30:1)

5 により精製し、白色粉末 45 (83.4 mg, 0.097 mmol, 64 %) を得た。

mp. 102 - 103 °C (AcOEt-ヘキサン).  $[\alpha]_D^{25} = -2.00^\circ$  (c = 0.40, CHCl<sub>3</sub>).

IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3166, 2932, 1684, 1607 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.90 (9H, s), 1.09 (3H, d, J = 7 Hz), 1.13 (3H, d, J = 7 Hz), 2.30 (1H, m), 2.37 (3H, s), 3.71, 3.76 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.32, 4.48 (2H, AB, J = 11 Hz), 4.35 (1H, d, J = 6 Hz), 4.63, 4.90 (2H, AB, J = 12 Hz), 4.96 (1H, t, J = 6 Hz), 5.67 (1H, d, J = 7 Hz), 7.17 - 7.71 (20H, m), 8.82 (1H, s), 12.05 (1H, br s). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ c: 18.7, 19.0, 21.6, 26.5, 36.2, 63.5, 69.1, 73.7, 74.3, 78.8, 86.2, 89.5, 127.7, 127.8, 128.0, 128.1, 128.5, 129.7, 130.0, 132.0, 132.6, 132.7, 135.3, 135.4, 137.4, 138.2, 144.8, 146.9, 155.5, 178.5.

(3) 3' -O-ベンジル-5' -O-tert-ブチルジフェニルシリル-2' -O, 4' -C-メチレン-N<sup>2</sup> -イソブチリルグアノシン (46) の合成

窒素気流下、45 (92.1 mg, 0.102 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (3.0 ml) に室温でナトリウムビス (トリメチルシリル) アミド (1.0 M in THF, 0.31 ml, 0.315 mmol) を加えた後、室温で 3 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加えた後、塩化メチレンで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 25:1) により精製し、白色粉末 (46) (31.4 mg, 0.160 mmol, 44 %) を得た。

25 mp. 99 - 100 °C. IR  $\nu_{\max}$  (KBr) : 3162, 3068, 2932, 1683, 1610 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.06 (9H, s), 1.25 (3H, d, J = 7 Hz), 1.27 (3H, d, J = 7 Hz), 2.64 (1H, m), 3.83, 4.01 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.97 (2H, d, J = 7 Hz), 4.18 (1H, s), 4.51 (1H, s), 4.54 (2H, d, J = 2 Hz), 5.77 (1H, s), 7.

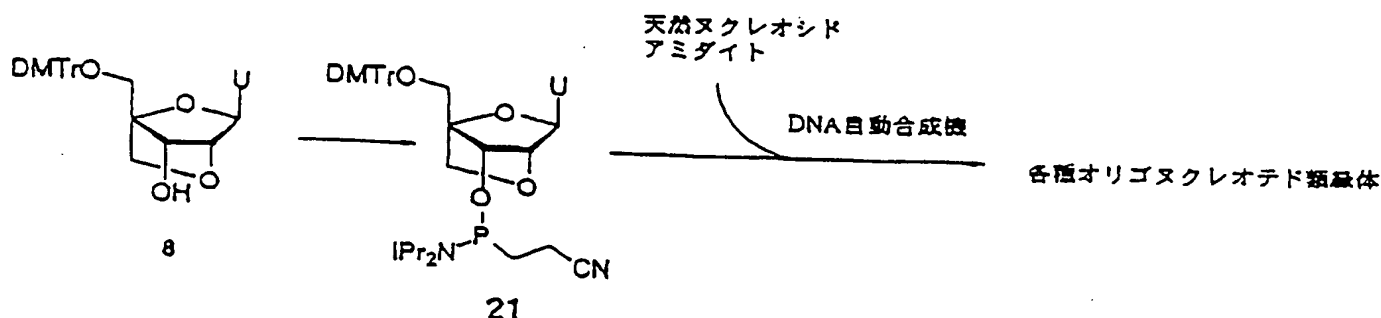
17-7.42 (5H, m), 7.64 - 7.72 (10H, m), 7.84 (1H, s), 9.03 (1H, s), 12.08 (1H, br s).  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ c: 18.9, 19.0, 19.1, 26.5, 26.7, 36.4, 59.1, 72.4, 72.5, 76.8, 77.5, 86.3, 88.3, 121.7, 127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.4, 129.6, 130.0, 132.36, 132.42, 134.8, 135.45, 135.54, 135.8, 136.8, 146.8, 147.7, 155.4, 178.6.

(4) 3'-O-ベンジル 1-2'-O, 4'-C-メチレン-N<sup>2</sup>-イソブチリルグアノシン (47) の合成

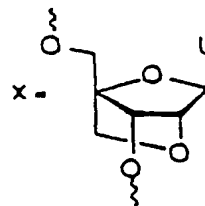
化合物 46 (41.3 mg, 0.060 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (3.0 ml) に室温でテトラブチルアンモニウムフルオリド (1.0 M in THF, 0.90 ml, 0.90 mmol) を加えた後、室温で 1 時間攪拌した。反応溶液を減圧留去して得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (AcOH-EtOH, 20:1) により精製し、白色粉末 (47) (27.1 mg, 0.060 mmol, quant.) を得た。

mp. 228 - 229 °C (Et<sub>2</sub>O).  $[\alpha]_D^{25} + 32.90^\circ$  (c = 0.875,  $\text{CHCl}_3$ ). IR  $\nu_{\text{max}}$  (KBr): 3162, 2934, 1683, 1608  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.24 (3H, d, J = 7 Hz), 1.26 (3H, d, J = 7 Hz), 2.76 (1H, m), 3.83, 4.03 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.92, 4.02 (2H, AB, J = 13 Hz), 4.33 (1H, s), 4.55 (1H, s), 4.62 (2H, s), 5.80 (1H, s), 7.25 (5H, s), 7.91 (1H, s), 9.85 (1H, s), 12.05 (1H, s).  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ c: 19.19, 19.25, 36.4, 57.4, 72.5, 77.0, 77.5, 86.5, 88.8, 121.0, 127.8, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 137.1, 137.5, 147.5, 148.2, 155.7, 179.9.

[実施例 6] オリゴヌクレオチド類縁体の合成



5'-GCGXTTTTGTGCT-3' (XT8)  
 5'-GCGTTXTTGTGCT-3' (T2XT3)  
 5'-GCGTTTGTGCT-3' (T3XT2)  
 5'-GCGTTTTXGCT-3' (T5X)  
 5'-GCGXXTTTGTGCT-3' (X2T4)  
 5'-GCGTTXXTTGTGCT-3' (T2X2T2)  
 5'-GCGTTTTXXGCT-3' (T4X2)  
 5'-GCGXXXXXXGCT-3' (X6)  
 5'-GTTTTTTTTTXXC-3' (X2)



(1) 3'-O-[2-シアノエトキシ (ジイソプロピルアミノ) ホスフィノ]-  
5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル)-2'-O, 4'-メタノ

ウリジン (21) の合成

化合物 8 (200 mg, 0.31 mmol)、ジイソプロピルアンモニウム テトラゾリ  
ド (39.6 mg, 0.23 mmol) を無水  $\text{CH}_3\text{CN}$  で 3 回共沸した後、無水  $\text{CH}_3\text{CN}$  - 無水  
THF 溶液 (3:1, 4 ml) とし、窒素気流下 2-シアノエチル N,N,N',N'-テトラ  
イソプロピル ホスホロジアミダイト (0.12 ml, 0.37 mmol) を加え、室温で 90  
分間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をシリカゲルカラムクロマ  
トグラフィー (AcOEt:ヘキサン:Et<sub>3</sub>N = 75:25:1) により精製後、AcOEt-ヘキ  
サンにて再沈澱し、アミダイト体 21 (181 mg, 0.25 mmol, 81%) を得た。

mp 71-74 °C (AcOEt-ヘキサン). <sup>31</sup>P-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 149.6, 149.5, 149.4,  
149.3, 149.2.

(2) オリゴヌクレオチド類縁体の一般合成 オリゴマーの合成は Pharmacia 社  
製 DNA 合成装置 Gene Assembler Plus により 0.2 μmol スケールで行った。溶  
媒、試薬、ホスホロジアミダイトの濃度は天然 DNA 合成の場合と同じである。3'-  
水酸基が CPG 支持体に結合した 5'-O-DMTr-チミジン (0.2 μmol) の DMTr  
基をトリクロロ酢酸によって脱保護し、その 5'-水酸基に天然 DNA 合成用の 4  
種の核酸塩基からなるアミダイトおよび化合物 21 を用いて縮合反応を繰り返し  
行い、それぞれの配列のオリゴヌクレオチド類縁体を合成した。合成サイクルは  
下記の通りである。

合成サイクル (0.2 μmol scale)

- 1) detritylation 1% CCl<sub>3</sub>COOH in CH<sub>2</sub>ClCH<sub>2</sub>Cl, 6 sec
- 2) coupling 0.1 M phosphoramidite (25 equiv.),

- 0.5 M 1H-tetrazole (500 equiv.) in MeCN, 2 min
- 3) capping                    3% 4-(dimethylamino)pyridine, 10% Ac<sub>2</sub>O,  
                              in MeCN, 18 sec
- 4) oxidation                0.01 M I<sub>2</sub> in 2,4,6-collidine/H<sub>2</sub>O/MeCN(1:5:11),  
                              6 sec

合成後は、常法に従って、濃アンモニア水処理によりオリゴマーを支持体から切り出すとともに、リン原子上の保護基シアノエチル基をはずし、さらにはアデニン、グアニン、シトシンの保護基をはずした。

得られた 5' -O-DMTr 化されたオリゴヌクレオチド類縁体は、逆相カラムクロマト (Millipore, Oligo-Pak<sup>TM</sup> SP) 上でトリフルオロ酢酸 5 ml により DMT r 基をはずし、引き続き精製を行い、目的のオリゴヌクレオチド類縁体を得た。

本一般合成法に従って、以下のオリゴヌクレオチド類縁体を合成した。

- (2) 5' -GCGXTTTTGTCT-3' (XT5)  
10                            収量 0.06  $\mu$ mol (30% yield)
- (3) 5' -GCGTTXTTTGTCT-3' (T2XT3)  
                              収量 0.05  $\mu$ mol (25% yield)
- (4) 5' -GCGTTTXTTGTCT-3' (T3XT2)  
                              収量 0.03  $\mu$ mol (15% yield)
- 15 (5) 5' -GCGTTTTTTXGCT-3' (T5X)  
                              収量 0.06  $\mu$ mol (30% yield)
- (6) 5' -GCGXXTTTTGTCT-3' (X2T4)  
                              収量 0.06  $\mu$ mol (30% yield)
- (7) 5' -GCGTTTXXTTGTCT-3' (T2X2T2)  
20                            収量 0.05  $\mu$ mol (25% yield)
- (8) 5' -GCGTTTTTXXGCT-3' (T4X2)  
                              収量 0.06  $\mu$ mol (30% yield)
- (9) 5' -GCGXXXXXXXXGCT-3' (X6)

収量 0.06  $\mu\text{mol}$  (30% yield)

(10) 5' -GTTTTTTTTTXXC-3' (X2)

収量 0.07  $\mu\text{mol}$  (35% yield)

〔実験例 1〕 融解温度 ( $T_m$ ) の測定

実施例 2 で合成した種々のオリゴヌクレオチド類縁体をアンチセンス鎖とし、天然の DNA あるいは RNA からなるセンス鎖とをアニーリング処理したものの融解温度 ( $T_m$  値) を測定することにより、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体の相補 DNA および RNA に対するハイブリッド形成能を調べた。

終濃度をそれぞれ、NaCl 100 mM、リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) 10 mM、アンチセンス鎖 4  $\mu$ M、センス鎖 4  $\mu$ M としたサンプル溶液 (500  $\mu$ L) を沸騰水中に浴し、10 時間をかけてゆっくり室温まで冷却した。分光光度計 (島津 UV-2100PC) のセル室内に結露防止のために窒素気流を通し、サンプル溶液を 5°C まで徐々に冷却し、さらに 20 分間 5°C に保った後、測定を開始した。サンプル温度は 90°C まで毎分 0.2°C ずつ上昇させ、0.1°C 間隔で 260 nm における紫外線吸収を測定した。なお、温度上昇とともにサンプル濃度

が変化するのを防ぐため、セルは蓋付きのものをを用い、サンプル溶液表面に鉱油を 1 滴添加して測定した。

表 1. アンチセンスオリゴヌクレオチド類縁体の相補 DNA 及び RNA に対する融解温度 ( $T_m$  値)

アンチセンス分子	相補 DNA <sup>a)</sup> との $T_m$	相補 RNA <sup>b)</sup> との $T_m$
	( $\Delta T_m$ /mod.)	( $\Delta T_m$ /mod.)
5'-GCGTTTTTTTGCT-3' (天然)	47°C	45°C
5'-GCGXTTTTTTGCT-3' (XT5)	50°C (+3°C)	49°C (+4°C)
5'-GCGTTXTTTTGCT-3' (T2XT3)	49°C (+2°C)	49°C (+4°C)
5'-GCGTTTXXTTTGCT-3' (T3XT2)	49°C (+2°C)	50°C (+5°C)
5'-GCGTTTTTXXGCT-3' (T5X)	52°C (+4°C)	51°C (+6°C)
5'-GCGXXTTTTTGCT-3' (X2T4)	51°C (+2°C)	53°C (+4°C)
5'-GCGTTXXTTTGCT-3' (T2X2T2)	49°C (+1°C)	53°C (+4°C)



5' -GCGTTTTXXGCT-3' (T4X2)	54°C (+3.5°C)	55°C (+5°C)
5' -GCGXXXXXXGCT-3' (X6)	58°C (+1.8°C)	71°C (+4.3°C)

a): 3' -CGCAAAAAACGA-5'.      b): 3' -r(CGCAAAAAACGA).

表から明らかなように、天然DNA鎖中に本発明のヌクレオシド類縁体（一般式（I a））のユニット（X）が1個あるいは2個導入したオリゴマーでは、相補DNAオリゴマーとのハイブリッド形成能が、 $T_m$ 値で評価して天然鎖よりも2-7度（1修飾残基当たり2度程度）上昇し、TをすべてXで置換した（X6）においては11度も上昇した。一方、相補RNAに対するハイブリッド形成能を評価したところ、1個あるいは2個導入したオリゴマーでは天然鎖よりも4-10度（1修飾残基当たり4度から6度）の $T_m$ 値の上昇が認められ、しかも（X6）においては相補RNAに対するハイブリッド形成能が更に強まり、 $T_m$ 値が25度以上（1修飾残基当たり4度）も上昇が認められた。このように、天然鎖よりも $T_m$ 値がかくも上昇する類縁体の例がなく、またDNAよりもRNAに対する親和性が高いことは、本発明のビシクロオリゴヌクレオシド類縁体を構成単位としたオリゴヌクレオチド類縁体がアンチセンス分子として極めて高い性能と医薬品素材としての有用性を有していることを意味していると言える。

#### [実験例2]    ヌクレアーゼ酵素耐性の測定

15      15分間37°Cに保ったオリゴヌクレオチドのバッファー溶液(10 $\mu$ M, 400 $\mu$ l)に蛇毒ホスホジエステラーゼのバッファー溶液 (0.003U/ml, 400 $\mu$ l)を混合した。混合溶液を37°Cに保った石英セル(800 $\mu$ l)に入れ、オリゴヌクレオチドの分解による紫外吸収(260nm)の増加をSHIMADZU UV-2100PCを用いて経時的に測定した。用いたバッファーの組成はTris-HCl(pH8.6)0.1M、NaCl 0.1M、MgCl<sub>2</sub>14mMであり測定前に十分に脱気した。

#### 半減期( $t_{1/2}$ )の測定

測定開始時( $t=0$ )及び紫外吸収が認められなくなった点のUV吸収の平均値を示す時間を半減期 ( $t_{1/2}$ )とした。

オリゴヌクレオチド配列	$t_{1/2}$ (秒)
-------------	---------------

5'-GTTTTTTTTTTC-3' (天然型) 260

5'-GTTTTTTTTT-XX-C-3' (X 2) 850

---

また、紫外部吸収の経時変化を示すチャートを図1 (天然鎖) 及び図2 (X 2) に示した。天然鎖は酸素反応開始後、約30分で紫外部吸収値が一定となり、X 2では約90分で一定となった。

[産業上の利用可能性]

- 5 この類縁体の使用により、生体内で酵素の加水分解を受けにくく、センス鎖との結合能が高く、しかも合成が容易であるオリゴヌクレオチド類縁体アンチセンス分子が提供される。

## 〔配列表〕

出願人の氏名：今西武

発明の名称：新規ビシクロヌクレオシド及びオリゴヌクレオチド類縁体

整理番号：

出願番号：

出願日：平成10年3月 日

優先権番号：特願平9-53409号

優先日：平成9年3月7日

配列の数：10

配列番号：1

配列の長さ：12

配列の型：ヌクレオチド

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

5' - GCGTTTTTTGCT - 3'

配列番号：2

配列の長さ：12

配列の型：ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

5' - GCGXTTTTTGCT - 3'

配列番号：3

配列の長さ：12

配列の型：ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

5' - GCGTTXTTTGCT - 3'

配列番号：4

配列の長さ：12

配列の型：ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

5' - GCGTTTXXTTTGCT - 3'

配列番号：5

配列の長さ：12

配列の型：ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

5' - GCGTTTTTTXGCT - 3'

配列番号：6

配列の長さ：12

配列の型：ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

5' - G C G X X T T T T G C T - 3'

配列番号 : 7

配列の長さ : 12

配列の型 : ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数 : 1本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列 :

5' - G C G T T X X T T G C T - 3'

配列番号 : 8

配列の長さ : 12

配列の型 : ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数 : 1本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列 :

5' - G C G T T T T X X G C T - 3'

配列番号 : 9

配列の長さ : 12

配列の型 : ヌクレオチド、ヌクレオチド類縁体

鎖の数 : 1本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列 :

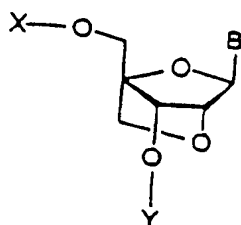
5' - G C G X X X X X X G C T - 3'

配列番号 : 10

配列の長さ : 13

## 請求の範囲

## 1. 一般式 (I)



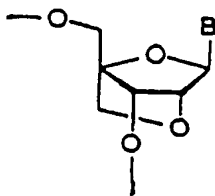
(I)

[式中、Bはピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体であり、X及びYは同一もしくは異なり、水素、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基、又はシリル基] で表わされるヌクレオシド類縁体もしくはそのアミダイト誘導体。

2. X、Yがともに水素である請求項1記載のヌクレオシド類縁体。

3. Xが4,4'-ジメトキシトリチル (DMTr) で、Yが2-シアノエトキシ (ジイソプロピルアミノ) ホスフィノ基 (アミダイト基) である請求項1記載のモノヌクレオシドアミダイト誘導体。

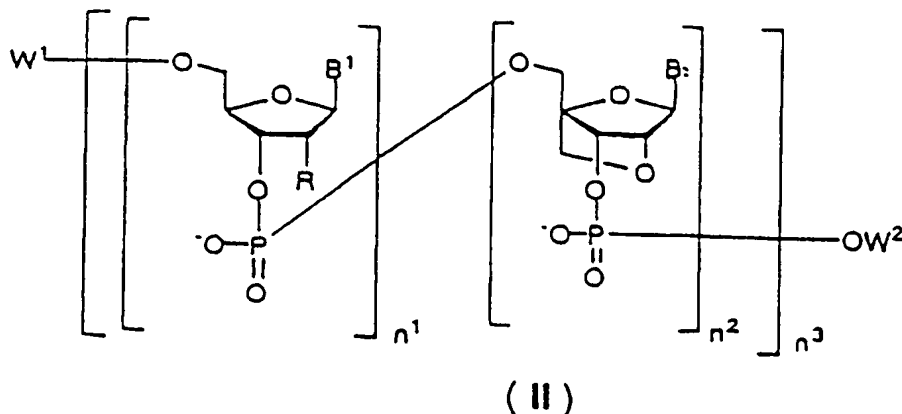
## 4. 一般式 (Ia)



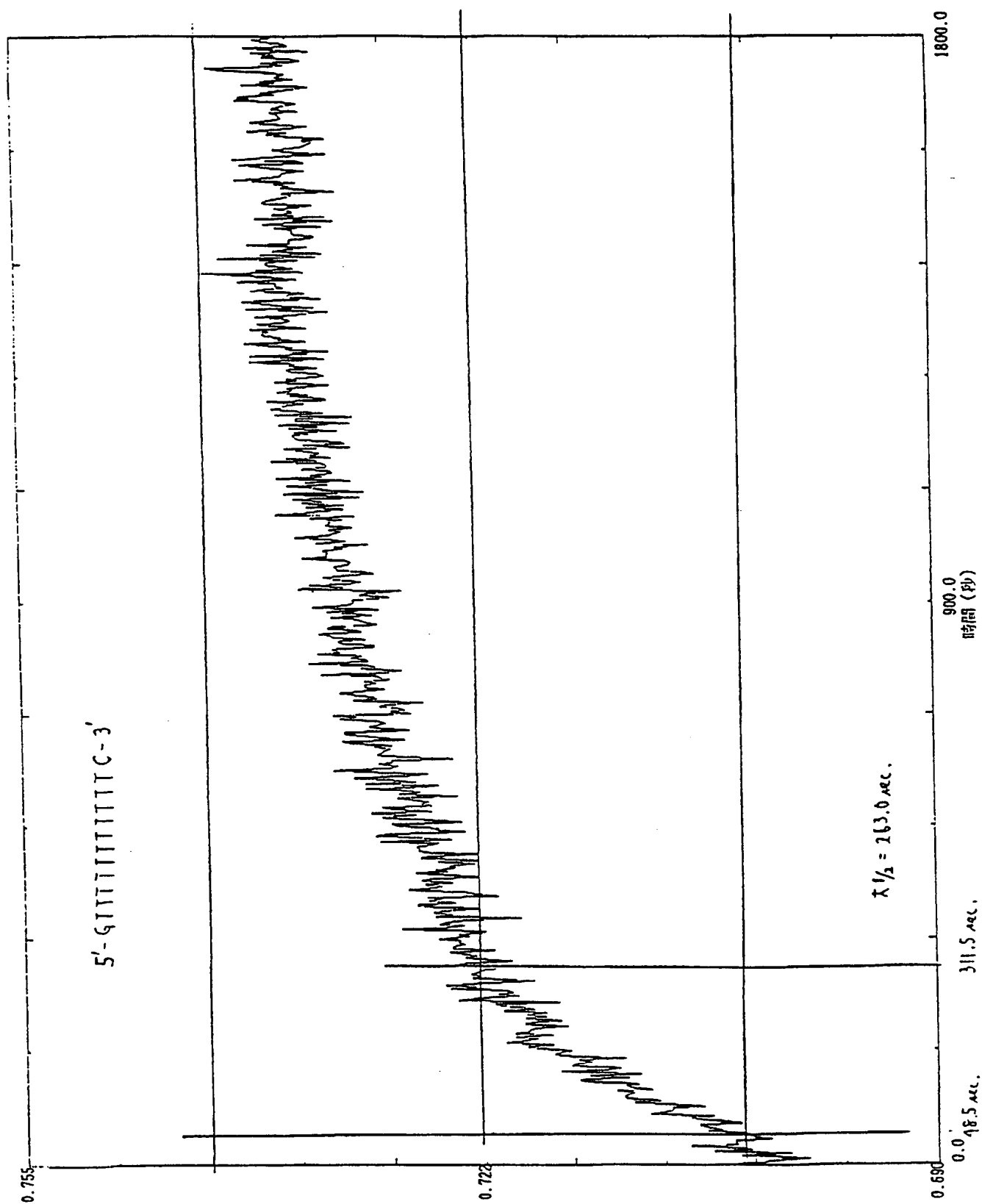
(Ia)

〔式中、Bはピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体である〕で表される構造を1または2以上有するオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド類縁体。

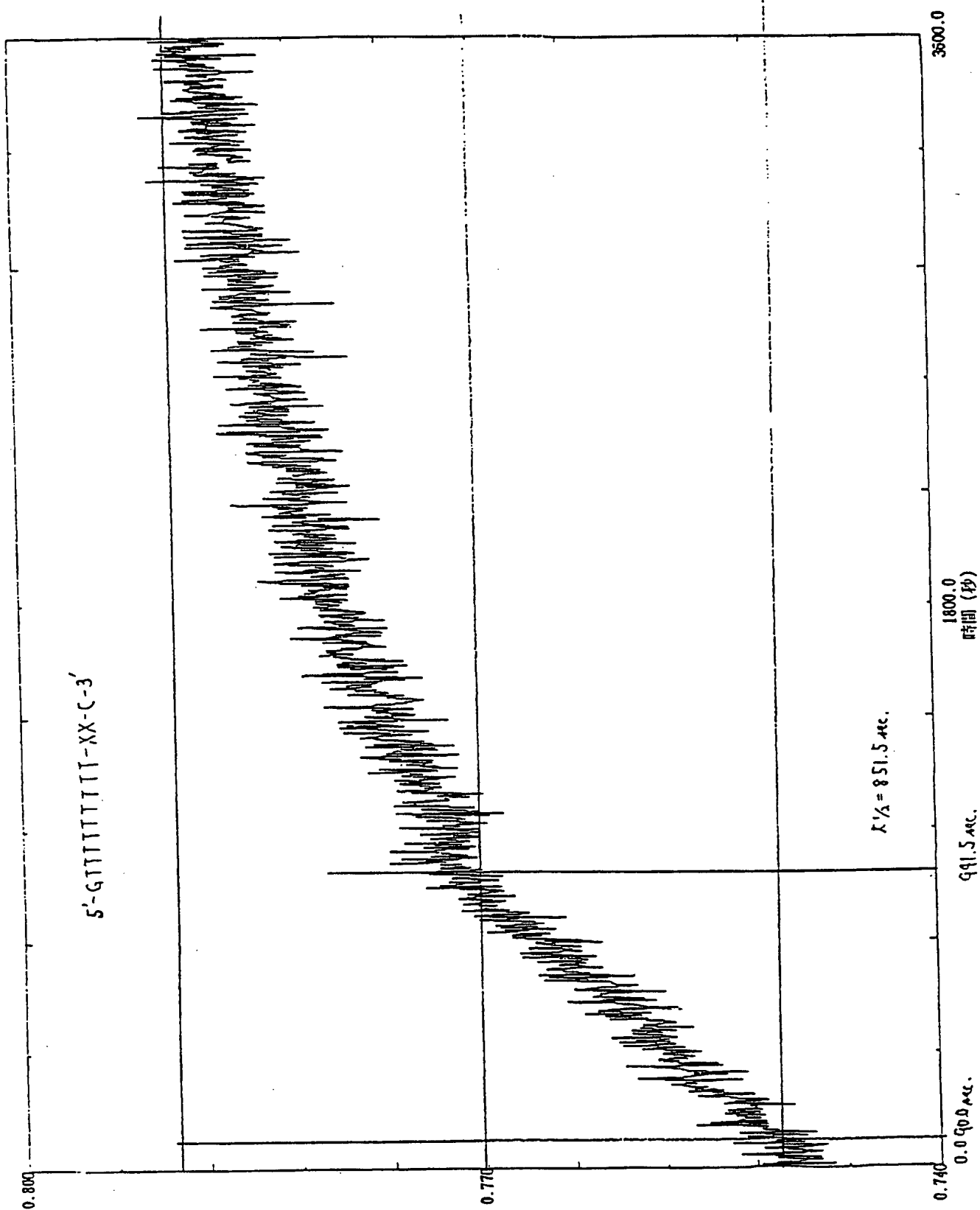
### 5. 一般式 (II)



- 5 〔式中、B<sup>1</sup>、Bは同一または異なり、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体であり、Rは水素、水酸基、ハロゲン、またはアルコキシ基であり、W<sup>1</sup>、W<sup>2</sup>は同一または異なり、水素、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基、シリル基またはリン酸残基もしくはリン酸ジエステル結合を介した天然型ヌクレオシド、及び
- 10 その類縁体またはこれらヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドであり、n<sup>1</sup>またはn<sup>2</sup>は同一または異なり、0から50の整数である（ただし、n<sup>1</sup>またはn<sup>2</sup>が同時にゼロになることはない。またn<sup>2</sup>のすべてがゼロになることはない。）、n<sup>3</sup>は1～50の整数である、ただし、n<sup>1</sup>および/またはn<sup>2</sup>が2以上の場合にはB<sup>1</sup>とBは同一でなくてもよく、Rも同一でなくても
- 15 よい〕で表されるオリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド類縁体。







# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00945

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>6</sup> C07H19/06, C07H19/16, C07H21/00 // C12N15/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>6</sup> C07H19/06, C07H19/16, C07H21/00, C12N15/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), CA (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	OBIKA S. et al., "Synthesis of 2'-O,4'-C-Methyleneuridine an d-cytidine. Novel Bicyclic Nucleosides Having a Fixed C <sub>3</sub> , -en do Sugar Puckering", Tetrahedron Letters, Vol. 38, No. 50 (15 December 1997) p.8735-8738	1-5
A	ALTMANN K. H. et al., "6'-Carbon-Substituted Carbocyclic Analogs of 2'-Deoxyribonucleosides Synthesis and Effect on DNA/RNA Duplex Stability" Tetrahedron, Vol. 52, No. 39 (1996) p.12699-12722	1-5
A	OBIKA S. et al., "Properties of Novel Oligonucleotide Analogues Containing an Acyclic Nucleoside and a Carbamate Linkage" Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 6, No. 12, (1996) p.1357-1360	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
May 25, 1998 (25. 05. 98)

Date of mailing of the international search report  
June 2, 1998 (02. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 98/00945

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>6</sup> C 07 H 19/06, C 07 H 19/16, C 07 H 21/00// C 12 N 15/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>6</sup> C 07 H 19/06, C 07 H 19/16, C 07 H 21/00, C 12 N 15/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), CA (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P、X	OBIKA S. et al., "Synthesis of 2'-O, 4'-C-Methyleneuridine and -cytidine. Novel Bicyclic Nucleosides Having a Fixed C <sub>3</sub> -endo Sugar Puckering", Tetrahedron Letters, Vol. 38, No. 50 (15 December 1997) p. 8735-8738	1-5
A	ALTMANN K. H. et al., "6'-Carbon-Substituted Carbocyclic Analogs of 2'-Deoxyribonucleosides Synthesis and Effect on DNA/RNA Duplex Stability" Tetrahedron, Vol. 52, No. 39 (1996) p. 12699-12722	1-5
A	OBIKA S. et al., "Properties of Novel Oligonucleotide Analogues Containing an Acyclic Nucleoside and a Carbamate Linkage"	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25.05.98

国際調査報告の発送日

02.06.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希

印

4 C

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3454

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 6, No. 12, (1996) p. 1357-1360	

## PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

11 September 1998 (11.09.98)

International application No.:

PCT/JP98/00945

Applicant's or agent's file reference:

YCT-315

International filing date:

09 March 1998 (09.03.98)

Priority date:

07 March 1997 (07.03.97)

Applicant:

IMANISHI, Takeshi et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

15 April 1998 (15.04.98)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

特 許 協 力 条 約

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-315	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/00945	国際出願日 (日.月.年) 09.03.98	優先日 (日.月.年) 07.03.97
国際特許分類(IPC) Int.Cl <sup>6</sup> C07H19/06, C07H19/16, C07H21/00 // C12N15/00		
出願人(氏名又は名称) 今西 武		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。  <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 15.04.98	国際予備審査報告を作成した日 08.02.99	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 中木 亜希 電話番号 03-3581-1101 内線 3454	4C 9282

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                          |            |         |        |                       |
|--------------------------|------------|---------|--------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> | 明細書        | 第 _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | PCT 19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲      | 第 _____ | 項、     | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> | 図面         | 第 _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの        |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

EPUS

PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-315	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/00945	国際出願日 (日.月.年) 09.03.98	優先日 (日.月.年) 07.03.97
出願人(氏名又は名称) 今西 武		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、  
第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>6</sup> C07H 19/06, C07H 19/16, C07H 21/00// C12N 15/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>6</sup> C07H 19/06, C07H 19/16, C07H 21/00, C12N 15/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), CA (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P、X	OBIKA S. et al., "Synthesis of 2'-O, 4'-C-Methyleneuridine and -cytidine. Novel Bicyclic Nucleosides Having a Fixed C <sub>3</sub> , -endo Sugar Puckering", Tetrahedron Letters, Vol. 38, No. 50 (15 December 1997) p. 8735-8738	1 - 5
A	ALTMANN K. H. et al., "6'-Carbon-Substituted Carbocyclic Analogs of 2'-Deoxyribonucleosides Synthesis and Effect on DNA/RNA Duplex Stability" Tetrahedron, Vol. 52, No. 39 (1996) p. 12699-12722	1 - 5
A	OBIKA S. et al., "Properties of Novel Oligonucleotide Analogues Containing an Acyclic Nucleoside and a Carbamate Linkage"	1 - 5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25.05.98

国際調査報告の発送日

02.06.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希



4 C

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3454

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 6, No. 12, (1996) p. 1357-1360  Q.P. 501.857	

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-5 有  
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-5 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-5 有  
請求の範囲 無

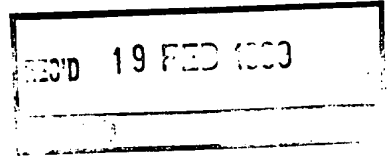
## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1-5に記載された発明は、国際調査報告に表示された文献及び当該発明に関連があると認められる文献に記載されておらず、かつ、当業者にとって自明なものでもない。

PCT

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
〔PCT36条及びPCT規則70〕



出願人又は代理人 の書類記号 YCT-315	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/00945	国際出願日 (日.月.年) 09.03.98	優先日 (日.月.年) 07.03.97
国際特許分類 (IPC) Int.Cl. <sup>6</sup> C07H19/06, C07H19/16, C07H21/00 // C12N15/00		
出願人 (氏名又は名称) 今西 武		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。  <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u>                    </u> ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 15.04.98	国際予備審査報告を作成した日 08.02.99	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員)  中木 亜希  電話番号 03-3581-1101 内線 3454	4C 9282

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1 - 5 有  
請求の範囲 無

進歩性 (I S)

請求の範囲 1 - 5 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (I A)

請求の範囲 1 - 5 有  
請求の範囲 無

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

請求の範囲 1 - 5 に記載された発明は、国際調査報告に表示された文献及び当該発明に関連があると認められる文献に記載されておらず、かつ、当業者にとって自明なものでもない。

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人  社本 一夫  殿  あて名 〒 100-0004  東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 湯浅法律特許事務所		PCT  国際予備審査報告の送付の通知書  (法施行規則第57条) [PCT規則71.1]	
出願人又は代理人 の書類記号 YCT-315		発送日 (日.月.年) 16.02.99	
国際出願番号 PCT/JP98/00945	国際出願日 (日.月.年) 09.03.98	優先日 (日.月.年) 07.03.97	
出願人 (氏名又は名称) 今西 武			
1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。  2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。  3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。  4. 注 意  出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））。（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。  国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。 この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。  選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第Ⅱ巻を参照すること。			
名称及びあて名 日本国特許庁（IPEA/JP） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員 特 許 庁 長 官  電話番号 03-3581-1101 内線 3454	